



Degradação de um *mulch* biodegradável (Agrobiofilm®) *in situ*, após incorporação no solo

Ana Raquel Lopes Aguiar

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Agronómica

Orientadores: Prof.^a Dra. Maria Odete Pereira Torres

Prof.^a Dra. Elizabeth da Costa Neves Fernandes de Almeida Duarte

Júri:

Presidente: Doutora Cristina Maria Moniz Simões Oliveira, Professora Associada com Agregação no Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Vogais: Doutora Maria Odete Pereira Torres, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Mestre Carlos Alberto da Costa Rodrigues, Gestor de Área de Negócio na Silvex, na qualidade de especialista

“You cannot change what you are, only what you do.”

Philip Pullman,
The Golden Compass

AGRADECIMENTOS

Neste espaço gostaria de agradecer a todas as pessoas que de uma forma ou de outra me ajudaram a concluir esta fase importante da minha vida.

Em primeiro lugar, quero agradecer à minha orientadora, a Professora Doutora Maria Odete Torres pela paciência que teve para mim e o ocasional puxão de orelhas que me deu. Sem isso, teria levado mais tempo a realizar este trabalho. Quero agradecer também à Professora Doutora Elizabeth D'Almeida Duarte, pela disponibilidade, conselhos e apoio manifestados ao longo do projeto.

Gostaria também de agradecer ao Professor Doutor Francisco Manuel Souto Gonçalves de Abreu do ISA e ao Instituto Português do Mar e da Atmosfera pela cedência dos dados meteorológicos e à Doutora Maria Encarnação Ferreira Marcelo do INIAV pelo apoio e sugestões dados na parte estatística. Um agradecimento especial também à Empresa Silvex – Indústria de Plásticos e Papéis SA, pela oferta do filme de cobertura de solo biodegradável (Agrobiofilm®).

Aos meus amigos, Ricardo, Mafalda, Guilherme, Vanessa, Pedro e André, ofereço também a minha gratidão pelo ombro amigo, compreensão e paciência que tiveram neste período da minha vida. Ao meu namorado David, por todo o amor e carinho que me ajudaram a acalmar em momentos mais atribulados e a aproveitar com maior satisfação todos os momentos de pausa.

Aos meus pais e irmão, porque sem eles, este projeto não teria existido. Vocês são as pessoas mais importantes da minha vida e a vós vos devo tudo.

A todos vós, a minha eterna gratidão e votos de felicidade e sucesso. Espero poder retribuir-vos tudo de bom que me trouxeram.

RESUMO

Os filmes de cobertura do solo (FCS) à base de polietileno são muito usados na agricultura devido a vantagens amplamente reconhecidas a eles associados. Porém, impactos ambientais adversos consequentes motivaram a produção de alternativas naturais e amigas do ambiente, mantendo as mesmas funções dos filmes convencionais. Com este fim, os FCS biodegradáveis, em particular os produzidos à base de amido de milho, Mater-Bi® (MB), estão a ser utilizados mundialmente. Contudo, ainda há aspetos relativos à sua degradação que precisam de ser estudados.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a perda de área de um FCS biodegradável à base de MB anteriormente usado num ciclo cultural de pimento picante (*Capsicum annuum* L.), *in situ* num vertissolo do Instituto Superior de Agronomia. O filme, de cor preta e 12 µm de espessura, tinha uma área inicial de 17,50 m², tendo sido incorporado no solo juntamente com os resíduos da cultura após a última colheita. Ao fim de 240 dias no solo, procedeu-se à recolha de todos os fragmentos de FCS visíveis a olho nu, limpeza cuidadosa com água destilada, captação de imagem e medição da área respetiva recorrendo a um *software* de processamento de imagem, ImageJ.

Foram recolhidos 405 fragmentos do solo, com uma área média de 28,07 cm², medindo o menor fragmento 0,44 cm² e o maior 388,10 cm². 83,5% dos fragmentos apresentavam uma área inferior a 50 cm². A área remanescente do FCS era de 1,14 m², correspondendo a uma redução de 93,5% da área inicial.

O facto de ter sido recolhida a totalidade dos fragmentos visíveis do solo permite inferir de uma forma mais próxima da realidade que ao fim de 240 dias incorporado no solo, o FCS é quase totalmente biodegradável.

Palavras-chave: Filme de cobertura de solo, Mater-Bi®, incorporação no solo, estimacão da biodegradacão.

ABSTRACT

Polyethylene-based mulch films are widely used in agriculture due to vast advantages associated to its use. However, adverse environmental problems motivated the production of natural and environmental friendly alternatives, while keeping the same functions of conventional films. Insomuch, the biodegradable mulches, in particular the ones based on maize starch, Mater-Bi®, are being used worldwide. Nevertheless, there are still some aspects related to their degradation that need to be studied.

The objective of this study was to evaluate the area loss of a Mater-Bi® based biodegradable mulch film previously used in a cultural cycle of a hot pepper crop (*Capsicum annuum* L.), *in situ* on a vertisol in Instituto Superior de Agronomia. The film, black, 12 µm thick and with an initial area of 17,50 m², was incorporated in the soil along with crop residues when the last harvest occurred. After 240 days, collection of every fragment visible to the naked eye, careful cleaning with distilled water, photography, and respective area measurement with an image processing software were performed.

405 fragments were collected from the soil, with a mean area of 28,07 cm², the smallest fragment measuring 0,44 cm² and the biggest 388,10 cm². 83,5% of the fragments exhibited an area inferior to 50 cm². The remaining area of the biodegradable mulch film was 1,14 m², corresponding to a reduction of 93,5% of the initial area.

The fact that all fragments of the biodegradable mulch film visible to the naked eye were collected allows inferring in a way that is closer to reality that after 240 days incorporated in soil, it is almost completely biodegraded.

Key-words: Biodegradable mulch film, Mater-Bi®, incorporation in soil, biodegradation estimation.

Índice

| | |
|---|------|
| AGRADECIMENTOS | I |
| RESUMO | II |
| ABSTRACT | III |
| Índice | IV |
| Índice de Figuras | V |
| Índice de Qactivuadros | VII |
| Lista de Abreviaturas | VIII |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. DEGRADAÇÃO DE <i>MULCHES</i> BIODEGRADÁVEIS <i>IN SITU</i> , APÓS INCORPORAÇÃO NO SOLO | 3 |
| 2.1. O uso de filmes de cobertura do solo degradáveis e não degradáveis em agricultura | 3 |
| 2.2. O processo de degradação de filmes de cobertura do solo biodegradáveis | 6 |
| 2.2.1. Fatores abióticos | 9 |
| 2.2.2. Biodeterioração | 11 |
| 2.2.3. Biofragmentação | 13 |
| 2.2.4. Assimilação | 14 |
| 2.2.5. Degradação de <i>mulches</i> biodegradáveis à base de Mater-Bi®, após incorporação no solo | 14 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 24 |
| 3.1. Enquadramento experimental | 24 |
| 3.2. Caracterização climática | 27 |
| 3.3. Classificação edáfica | 30 |
| 3.4. Avaliação dos fragmentos do <i>mulch</i> biodegradável 8 meses após a incorporação no solo | 31 |
| 3.5. Tratamento estatístico | 34 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 35 |
| 4.1. Degradação do filme de cobertura de solo | 35 |
| 4.1.1. Perda de área | 36 |
| 5. CONCLUSÕES | 41 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 43 |
| Anexo A | i |
| Anexo B | ii |
| Anexo C | viii |
| Anexo D | xiv |

Índice de Figuras

| | |
|--|----|
| 2.1 Produção global de bioplásticos em 2017 (por tipo de material). Adaptado de European Bioplastics, nova-Institute (2017)..... | 6 |
| 2.2 Esquema da biodegradação de um polímero. Adaptado de Lucas <i>et al.</i> (2008)..... | 9 |
| 2.3 Evolução da degradação no solo de FCS biodegradável usando uma técnica de processamento de imagem. Fonte: Briassoulis (2007)..... | 17 |
| 2.4 Evolução da perda de peso com o tempo de exposição de quatro filmes de cobertura de solo durante o período experimental de incorporação no solo. Adaptado de Liu <i>et al.</i> (2010)..... | 18 |
| 2.5 Exemplo do Agrobiofilm ® 3, antes do enterramento (a), depois da remoção do solo (b), imagem processada com ImageJ (c, d) – (e) detalhe das raízes na superfície do FCS depois da remoção do solo (b). O rácio entre as áreas (c) e (d) dá a percentagem de área perdida. Fonte: Costa <i>et al.</i> (2014)..... | 19 |
| 2.6 Percentagem de área perdida no teste de biodegradação em condições de campo para todas as modalidades. Nota: há uma escala diferente no lado direito do gráfico porque a perda de área dos FCS é mais baixa quando comparada com a da celulose. Adaptado de Costa <i>et al.</i> (2014)..... | 20 |
| 2.7 Evolução dos resíduos do FCS à base de MB após incorporação no solo: a) superfície b) peso. Os dados foram expressos em percentagem em relação à primeira data de amostragem (5 de novembro). Adaptado de Moreno <i>et al.</i> (2017)..... | 22 |
| 3.1 Localização do talhão de terreno, no Instituto Superior de Agronomia, no concelho de Alcântara, distrito de Lisboa (38° 42' 45.7" N, 9° 11' 03.2" W) onde foi conduzido o estudo experimental. Fonte: Google Maps (2017)..... | 24 |
| 3.2 Aspeto do FCS biodegradável usado na cultura de pimento picante à data da última colheita. Foto: Paulinho (2016)..... | 25 |
| 3.3 Aspeto dos camalhões após a incorporação no solo do FCS biodegradável remanescente, juntamente com os resíduos de cultura, no dia 6 de dezembro de 2016. Foto: Paulino (2017)..... | 26 |
| 3.4 Aspeto de um camalhão 15 dias após incorporação do FCS biodegradável (21 de dezembro de 2016). Foto: Paulino (2017)..... | 26 |
| 3.5 Diagrama Ombrotérmico de Gaussen para a Tapada da Ajuda. Adaptado de Normais Climáticas da Tapada da Ajuda, 1971/2000. Fonte: Estação Agrometeorológica do ISA/IM (Anexo A)..... | 27 |
| 3.6 Diagrama Ombrotérmico de Gaussen para a Tapada da Ajuda. Dados obtidos a partir da média aritmética dos valores diários observados pela Estação Meteorológica automática Lisboa/Tapada da Ajuda (Latitude, 38° 42' N, Longitude, 9° 11' W, Altitude, 60 m). Fonte: | |

| | |
|--|----|
| IPMA (Anexo B). Nota: no dia 31 de janeiro de 2017 houve uma falha de medição do valor da precipitação, pelo que não foi contabilizado no cálculo da média da precipitação desse mês..... | 28 |
| 3.7 Evolução da radiação solar global (MJ m ⁻²), na Tapada da Ajuda. Dados obtidos a partir da média aritmética dos valores diários observados pela Estação Meteorológica automática Lisboa/Tapada da Ajuda (Latitude, 38° 42' N, Longitude, 9° 11' W, Altitude, 60 m). Fonte: IPMA (Anexo B)..... | 29 |
| 3.8 Material utilizado para recuperar os fragmentos do FCS biodegradável da parcela experimental. Fonte: Aguiar (2017)..... | 31 |
| 3.9 Pormenor de um fragmento do FCS biodegradável. Fonte: Aguiar (2017)..... | 31 |
| 3.10 Exemplo de resíduos de FCS biodegradável recuperado de um dos camalhões, colocado a secar em cima de duas folhas de papel branco de tamanho A3. Fonte: Aguiar (2017)..... | 32 |
| 3.11 Exemplo de uma das medições de área efetuadas com a ajuda do software ImageJ. O processo foi repetido para cada um dos fragmentos. Fonte: Aguiar (2017)..... | 33 |
| 4.1 Número de fragmentos de FCS biodegradável em cada classe relativa à respetiva área, 8 meses após a incorporação no solo..... | 36 |
| 4.2 Perda de área superficial do FCS biodegradável à base de MB (Agrobiofilm ®), 240 dias após a incorporação no solo. Os resultados são expressos em função da área inicial (17500 cm ²)..... | 37 |

Índice de Quadros

| | |
|--|----|
| 2.1 Percentagem de perda de peso obtida para um FCS à base de amido com aditivos biodegradáveis com espessuras de 35 e 116 µm, em quatro locais de incorporação no solo, após 2 anos. Adaptado de Calmon <i>et al.</i> , (1999)..... | 15 |
| 2.2 Características dos FCS testados. Adaptado de Scarascia-Mugnozza <i>et al.</i> (2006)..... | 16 |
| 2.3 Características dos FCS avaliados por Costa <i>et al.</i> (2014)..... | 19 |
| 2.4 Resumo dos resíduos de FCS à base de MB ao fim de 200 dias após incorporação no solo. Adaptado de Moreno <i>et al.</i> (2017)..... | 21 |
| 3.1 Características físico-químicas do solo onde foi realizado o ensaio experimental..... | 30 |
| 4.1 Análise descritiva da área remanescente do FCS biodegradável e o total inicial do mesmo..... | 36 |

Lista de Abreviaturas

Agrobiofilm ® - Filme de cobertura de solo biodegradável à base de Mater-Bi ® de cor negra e com 12 µm de espessura aplicado no ensaio de campo

CH₄ – Metano

CO₂ – Dióxido de carbono

DIN EN - Deutsches Institut für Normung European Norm

FCS – Filme(s) de cobertura do solo

H₂O – Água

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

IPMA- Instituto Português do Mar e da Atmosfera

ISA – Instituto Superior de Agronomia

ISO - Organização Internacional de Normalização

LDPE – Polietileno de baixa densidade

MB – Mater-Bi ®

MO – Matéria orgânica

N₂ – Azoto molecular

O₂ – Oxigénio

PCL – Poli (ε-caprolactona)

PE – Polietileno

RP – Resíduos plásticos

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, há uma crescente preocupação com a qualidade e segurança ambiental, quer a nível social, quer industrial, quer agrícola. Sendo a Terra o único planeta conhecido no atual Universo visível capaz de albergar vida inteligente e em condições gradualmente mais preocupantes, espera-se que se tenha atenção e cuidados cada vez maiores na forma como se lida com problemas do quotidiano. Por essa razão, e talvez também devido a uma maior consciência ambiental e sociocultural de todos, cada vez mais se procuram soluções alternativas a práticas agrícolas que permitam preservar e respeitar a Natureza.

O crescimento da agricultura foi exponencial nos últimos anos, muito em parte devido a novas práticas culturais, mas à custa da deterioração ambiental. O uso de plásticos para cobertura do solo permitiu a agricultores em todo o mundo controlar infestantes, conservar a humidade e regular a temperatura do solo e, assim, aumentar a quantidade e qualidade de produção e a precocidade de maturação (Kyrikou e Briassoulis, 2007; Touchaleaume *et al.*, 2016). O consumo de plásticos a nível mundial chega a atingir 6,5 milhões de toneladas por ano (Scarascia-Mugnozza *et al.*, 2011) e mais de 10% refere-se a plásticos de cobertura de solo (Costa, 2012). Por isso, é cada vez mais premente a imposição de alternativas para substituir o seu uso em *mulching*.

Os filmes de plástico convencionais, utilizados continuamente, são maioritariamente constituídos por polietileno de baixa densidade (LDPE), um material inerte de baixo custo económico (Koutny *et al.*, 2006), facto com impacto negativo nos ecossistemas, já que a quantidade utilizada deste material é muito superior à taxa de degradação realizada pelos microrganismos presentes no solo e, portanto, persistindo nesse meio. A Legislação Europeia proíbe o enterramento, a queima e a acumulação descontroladas dos resíduos (Diretiva 1999/31/CE, Diretiva 2000/76/CE, Diretiva 2008/98/CE). Contudo, até agora, não há quadro jurídico específico na Europa para assegurar um sistema de eliminação de resíduos plásticos (RP) amigo do ambiente, economicamente praticável e socialmente aceitável (Briassoulis *et al.*, 2012). O processo de reciclagem é dispendioso (Saponaro *et al.*, 2008; Scarascia-Mugnozza *et al.*, 2011; Briassoulis *et al.*, 2012; Steinmetz *et al.*, 2016), difícil, se não mesmo impossível, uma vez que cerca de 80% do material recolhido representa areia e solo. Queimar o filme plástico a céu aberto é ilegal – os gases libertados da queima são tóxicos e o polietileno (PE) acumula-se no solo –, pelo que se torna necessário obter alternativas. Dentro destes materiais incluem-se os fotodegradáveis – pela ação da luz –, oxodegradáveis – oxidação térmica do material – e foto-oxodegradáveis – pela ação de raios ultravioleta (Briassoulis,

2007; Sivan 2011; Kasirajan e Ngouajio, 2012). Uma das alternativas passa por plásticos constituídos por materiais poliméricos biodegradáveis (Briassoulis, 2007).

Briassoulis (2007) considerou os polímeros biodegradáveis como materiais que, quando colocados em ambientes biologicamente ativos, são degradados por enzimas sendo as cadeias de polímeros quebradas. Outros materiais são produzidos através de misturas de amido ou celulose, como o MB, desenvolvido nos anos oitenta por Novamont S.p.A. (Novamont, 2013), um co-poliéster alifático/aromático com matriz de amido de milho (Agrobiofilm, 2013), materiais de origem renovável e biológica e polímeros de origem sintética (Gross e Kalra, 2002; Costa, 2012). A utilização deste tipo de materiais permite aos utilizadores evitar preocuparem-se com a gestão dos resíduos, uma vez que, ao incorporá-los no solo, facilmente se degradam por meio da intervenção dos microrganismos nele presentes, além de não terem efeitos prejudiciais no ambiente (Scarascia-Mugnozza *et al.*, 2011).

Com este trabalho, pretendeu-se avaliar a degradação de um FCS biodegradável designado MB (Agrobiofilm ®), usado anteriormente num ciclo cultural de pimento picante (*Capsicum annuum* L.), em condições reais de campo, 8 meses (240 dias) após a incorporação no solo, através da recolha da totalidade de fragmentos visíveis a olho nu e posterior medição da área cada um.

2. DEGRADAÇÃO DE *MULCHES* BIODEGRADÁVEIS *IN SITU*, APÓS INCORPORAÇÃO NO SOLO

2.1. O uso de filmes de cobertura do solo degradáveis e não degradáveis em agricultura

O rápido crescimento da população coloca um grande desafio tanto para a eficiência como para a sustentabilidade das práticas agrícolas, tendo em conta a disponibilidade limitada da terra arável (Steinmetz *et al.*, 2016). O uso de plásticos para cobertura de solo na agricultura permitiu aos empresários agrícolas aumentar a produtividade das suas culturas e reduzir a dependência destas relativamente às condições climáticas (Briassoulis, 2007).

Na agricultura, o consumo de plásticos a nível mundial chega a atingir 6,5 milhões de toneladas por ano (Scarascia-Mugnozza *et al.*, 2011) e mais de 10% refere-se a plásticos de cobertura do solo (Costa, 2012). A utilização de *mulches* plásticos sofreu uma expansão ao longo do tempo devido a variados benefícios agronómicos e ambientais, entre os quais se destacam: i) o aumento da produção e precocidade da colheita, devido ao aumento ou preservação da temperatura do solo, sobretudo a nível radicular (Tarara, 2000), levando a um desenvolvimento mais rápido da cultura (Lamont, 1993), podendo antecipar-se a data de colheita (Coutinho, 2016); ii) menor dependência de herbicidas e pesticidas, uma vez que o plástico preto, por exemplo, dificulta a chegada de luz ao solo, impedindo o desenvolvimento de infestantes que podem competir com a cultura ou ser um foco de insetos vetores de doenças para a mesma (McKenzie e Duncan, 2001; Kyrikou e Briassoulis, 2007; McCraw e Motes, 2007; Scarascia-Mugnozza *et al.*, 2011); iii) redução do consumo de água na rega, pois o filme plástico funciona como uma barreira, regulando a humidade do solo, permitindo uma menor frequência de regas, reduzindo as perdas por evapotranspiração nos períodos secos e evitando a humidade excessiva nos períodos de precipitação (Lamont, 1993; McCraw e Motes, 2007); e iv) aumento da qualidade dos produtos, uma vez que os hortícolas, nomeadamente, não estão em contacto direto com o solo, diminuindo a possibilidade de ocorrer algum tipo de podridão (Lamont, 1993; McCraw e Motes, 2007; Coutinho, 2016).

Lamentavelmente, não são só vantagens que advêm do uso de filmes plásticos em agricultura. Com efeito, a modificação das condições microclimáticas pode aumentar a degradação biológica da matéria orgânica (MO) do solo, levando à rápida redução de nutrientes do solo em geral e reservas de carbono em particular (Domagała-Świątkiewicz e Siwek, 2013; Zhang *et al.*, 2015). Isto pode, eventualmente, reduzir a qualidade do solo (Doran e Parkin, 1994; Steinmetz *et al.*, 2016). Para além disso, o seu uso frequente, especialmente para culturas protegidas (p.e. filmes de estufa, redes), pode influenciar as características

globais do ecossistema agrícola (p.e. modificação na distribuição do pólen, insetos, pássaros, entre outros.). Ademais, a qualidade visual da paisagem rural pode ser significativamente alterada pela forte difusão das coberturas de plástico em grandes áreas (Picuno, 2011), nomeadamente usadas em estufas e túneis.

Uma das principais preocupações da utilização destes materiais em cobertura do solo, *mulching*, é o impacto ambiental que está associado à gestão dos resíduos que geram após o seu uso (Moreno e Moreno, 2008; Briassoulis *et al.*, 2015). Os polímeros plásticos convencionais, na sua maioria fabricados a partir de PE (Janssen e Moscicki, 2009), não se degradam de forma biológica. A sua remoção é uma atividade dispendiosa (Briassoulis *et al.*, 2012), muito devido à dificuldade de recolha, para além de não ser eficaz. Também são difíceis de reciclar uma vez que uma grande percentagem do peso dos fragmentos do *mulch* recuperado corresponde a material estranho (80% solo, areia, entre outros) (González *et al.*, 2003; Briassoulis *et al.*, 2010, 2012). No entanto, esta não é a realidade actual em Portugal.

Na maior parte dos casos, o FCS é abandonado no terreno ou queimado ao ar livre pelos agricultores, mas a consequente emissão de substâncias nocivas é um problema para a saúde pública e ambiental (Briassoulis, 2006; Scarascia-Mugnozza *et al.*, 2006) devido ao PE e outras substâncias tóxicas que se vão acumulando no solo (Briassoulis *et al.*, 2015; Ramos *et al.*, 2015). Estudos realizados por Ohtake *et al.* (1998) demonstraram que seriam necessários aproximadamente 300 anos para que uma camada de PE de 60 µm fosse completamente degradada. A incineração, a reciclagem, a foto e biodegradação (Hemphil, 1993) e a deposição em aterros (Clarke, 1996), não são soluções vantajosas. Esta última pode levar mesmo à contaminação do solo com a acumulação de poluentes tóxicos (Paulino, 2017) que, se não forem removidos do terreno, a sua acumulação pode pôr em risco a vida selvagem terrestre e aquática quando entram na cadeia alimentar (Barnes *et al.*, 2009; Teuten *et al.*, 2009; Rillig, 2012; Duis e Coors, 2016). De acordo com Scarascia-Mugnozza *et al.* (2011), quando os RP estão demasiado danificados ou contaminados, a sua incineração é preferível em vez da reciclagem.

Em 2015, a produção total de plásticos à base de petróleo excedeu os 300 milhões de toneladas (Mekonnen *et al.*, 2013). A cada ano, 34 milhões de toneladas de RP são gerados e 93% são depositados em aterros e oceanos (Pathak *et al.*, 2014). Porém, a alternativa de recuperação da energia desses resíduos pode aumentar as emissões de CO₂. Uma grande quantidade de RP depositados em aterros, eventualmente, leva à produção de gases de efeito de estufa e lixiviados (Emadien *et al.*, 2017).

Mais recentemente, começaram a ser exploradas duas formas de minimizar o impacto do uso de polímeros no ambiente (Lucas *et al.*, 2008): i) produção de materiais poliméricos de longa duração para o fabrico de materiais de construção, revestimentos, entre outros; estes materiais devem ser inalteráveis e produzidos principalmente a partir de recursos renováveis (Wuambua *et al.*, 2003; Mougin, 2006; Sudin e Swamy, 2006; Ashori, 2008) e ii) produção de polímeros de ciclo de vida curto, como embalagens descartáveis e *mulches* agrícolas, com a capacidade de rápida biodegradação (Bastioli, 1998; Chandra e Rustgi, 1998; Lörcks, 1998; Averous e Le Digabel, 2006).

2.2. O processo de degradação de filmes de cobertura do solo biodegradáveis

No passado, os plásticos poliméricos foram produzidos para resistir à degradação. Porém, a acumulação de RP, produzidos a partir de recursos não renováveis, como o petróleo, no ambiente, é uma crescente preocupação (Accinelli *et al.*, 2012). A indústria foi forçada a produzir um material sustentável e biodegradável (Pathak *et al.*, 2014) e os plásticos biodegradáveis amigos do ambiente ganharam visibilidade e procura (Mohee *et al.*, 2008; Accinelli *et al.*, 2012). Consequentemente, na última década, o número de polímeros biodegradáveis que entraram no mercado, aumentou largamente (Accinelli e Abbas, 2011). Em 2017, a produção global de bioplásticos atingiu as 2,05 milhões de toneladas, mas apenas 42,9% destes eram biodegradáveis (Figura 2.1) (European Bioplastic, nova-Institute, 2017).

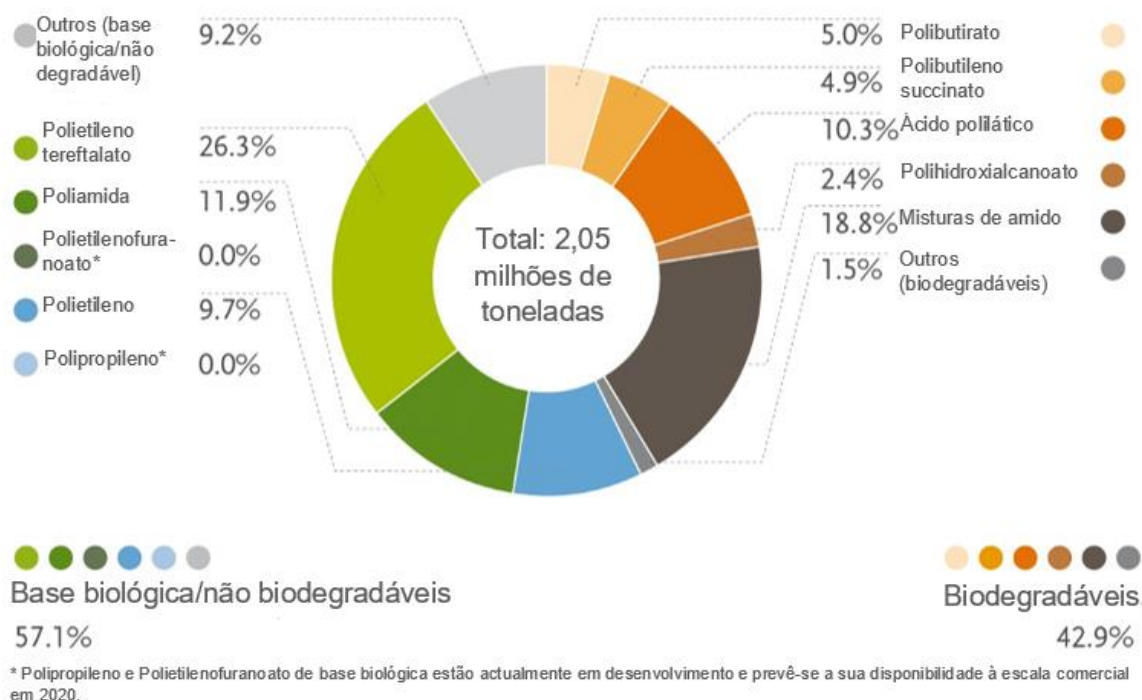


Figura 2.1. Produção global de bioplásticos em 2017 (por tipo de material). Adaptado de European Bioplastics, nova-Institute (2017)

A maioria dos biopolímeros termoplásticos que são atualmente utilizados para o fabrico de produtos industriais e do quotidiano são, entre outros, uma variedade de biopolímeros à base de amido. O amido é um polímero natural e totalmente biodegradável com propriedades termoplásticas potencialmente úteis. Estes aspetos motivaram o seu uso na substituição de polímeros derivados de petróleo na indústria do plástico (Koch e Ropper, 1989).

Ao longo dos anos, foram propostas diferentes tecnologias para fabricar plásticos à base de amido. Um exemplo de sucesso é o MB, desenvolvido nos anos 80 por Novamont S.p.A. (Novamont, 2013). Este bioplástico é maioritariamente composto por amido de milho (*Zea mays* L.) e outros plastificantes naturais, em menor quantidade (Bastioli, 2001). Completamente biodegradável e compostável, é um dos materiais mais utilizados atualmente na produção de filmes agrícolas, sobretudo porque, quando enterrados, uma grande parte deles se desintegra em aproximadamente 3 meses (Bastioli, 1998; Bastioli, 2001). Este material é gerado a partir de amiloses e outras estruturas naturais que lhe conferem resistência à água (Graci *et al.*, 2008) sem, contudo, ser permeável ao vapor de água (Chandra e Rustgi, 1998). Processado por extrusão (Novamont, 2013), não são conhecidos efeitos ecotóxicos associados (Briassoulis, 2006), pelo que se torna uma alternativa interessante aos plásticos convencionais. Além disso, com a certificação “Ok Compost”, que assegura a não toxicidade para o solo e ambiente (Novamont, 2013), o produto pode ser usado no modo de produção biológica (Filippi *et al.*, 2011).

O termo “bioplástico” pode referir-se a plásticos sintetizados de forma biológica a partir de biomassa e recursos renováveis (como amido, açúcar ou celulose) ou plásticos produzidos a partir de combustíveis fósseis que também podem servir de substrato para microrganismos (Tokiwa *et al.*, 2009; Mekonnen *et al.*, 2013). Dados de 2009 indicam que se produziam mundialmente cerca de 300 mil toneladas de bioplásticos por ano, aproximadamente 0,1% da produção mundial de plásticos (Barker e Safford, 2009).

Um polímero é definido como “ambientalmente degradável” ou “biologicamente degradável” se pode sofrer desintegração, i.e., deterioração das propriedades mecânicas, possível fragmentação, seguida de um ataque microbiano (Krzan *et al.*, 2006). A biodegradação ou degradação biótica é a degradação química dos materiais (p.e. polímeros) provocada pela ação de microrganismos de ocorrência natural como bactérias, fungos e algas (Nayak, 1999; Gross e Kalra, 2002; Briassoulis, 2004; Kyrikou e Briassoulis, 2007). Há standardizações europeias que definem que, para um polímero ser considerado biodegradável, após 6 meses mais de 90% do material inicial deve ser convertido em biomassa, água e CO₂ (DIN EN 13432:2000-12, 2000).

A questão chave, independentemente de como é sintetizado o produto biodegradável, é a verificação se de facto é “biodegradável no solo” ou “biodegradável na água” ou “compostável”. Muitos polímeros considerados “biodegradáveis” são na verdade “degradáveis” sob condições diferentes, como “hidrodegradáveis”, “fotodegradáveis” ou

“oxodegradáveis”. Estas diferentes classes de polímeros integram todas a larga categoria de “polímeros ambientalmente degradáveis” (Kyrikou e Briassoulis, 2007).

A degradação, muitas vezes também referida como deterioração ou desintegração (Krzan *et al.*, 2006), pode ser descrita como um processo irreversível que conduz a uma mudança significativa da estrutura do material, caracterizada pela perda de propriedades (p.e. integridade, peso molecular, estrutura ou força mecânica) e/ou fragmentação (Moreno *et al.*, 2017). A biodegradação envolve atividade biológica (Moreno *et al.*, 2017). Esta consiste em vários passos (Figura 2.2):

- Biodeterioração, que é a modificação mecânica, química e física das propriedades do polímero devido à ação de microrganismos, organismos decompositores e/ou fatores abióticos que fragmentam os materiais biodegradáveis em pequenas frações (Eggins e Oxley, 2001; Walsh, 2001);
- Biofragmentação, que é a conversão dos polímeros em oligómeros e monómeros pela ação dos microrganismos que secretam agentes catalíticos (i.e., enzimas e radicais livres) capazes de separar moléculas poliméricas, reduzindo progressivamente o seu peso molecular (Lucas *et al.*, 2008). Algumas moléculas são reconhecidas por recetores de células microbianas e penetram a membrana plasmática, enquanto outras permanecem no meio extracelular podendo sofrer diferentes modificações (Lucas *et al.*, 2008);
- Assimilação, no qual as moléculas transportadas para o citoplasma integram o metabolismo microbiano para produzir energia, biomassa, vesículas de armazenamento e numerosos metabolitos primários e secundários (Lucas *et al.*, 2008);
- Mineralização, que ocorre quando alguns metabolitos simples e complexos são excretados para o ambiente extracelular (p.e. ácidos orgânicos, aldeídos, terpenos, antibióticos, entre outros). Algumas moléculas simples, como CO₂, N₂, CH₄, H₂O e diferentes sais, são completamente oxidadas e libertadas para o ambiente (Lucas *et al.*, 2008).

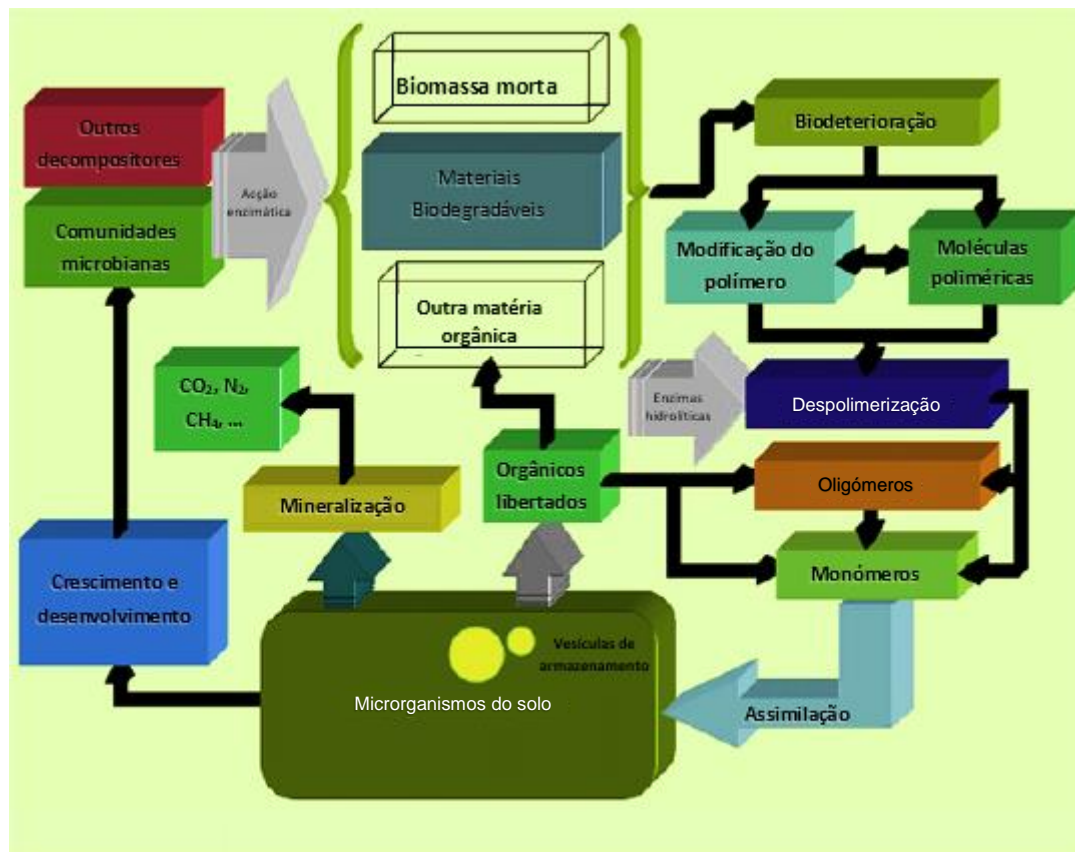


Figura 2.2. Esquema da biodegradação de um polímero. Adaptado de Lucas *et al.* (2008)

O termo biodegradação indica a predominância da atividade biológica neste fenómeno. Contudo, na natureza, fatores bióticos e abióticos agem sinergicamente para decompor a MO. De facto, a degradação abiótica precede a assimilação microbiana (Lucas *et al.*, 2008). Os fatores mais importantes que afetam a biodegradação dos plásticos no ambiente são a estrutura mecânica, a cadeia polimérica, a cristalinidade e a complexidade da sua fórmula (Emadien *et al.*, 2017). Além disso, o tipo de plástico ou o ambiente onde é colocado são também fatores fundamentais para a sua biodegradação. O pH, a temperatura, a humidade e o teor em oxigénio devem, igualmente, ser considerados na biodegradação dos polímeros (Massardier-Nageotte *et al.*, 2006; Kale *et al.*, 2007).

Em seguida, descreve-se mais pormenorizadamente de que forma ocorre a biodegradação de um polímero e que fatores afetam esta em cada estágio.

2.2.1. Fatores abióticos

Os materiais poliméricos que são expostos a condições de ar livre, nomeadamente ao clima, envelhecimento e incorporação no solo, podem sofrer transformações (mecânicas, pela luz,

térmicas e químicas) mais ou menos importantes. Esta exposição altera a capacidade de biodegradação dos materiais poliméricos. Na maioria dos casos, parâmetros abióticos contribuem para enfraquecer a estrutura polimérica e, desta forma, favorecer as alterações (Helbling *et al.*, 2006; Ipekoglu *et al.*, 2007) que podem ser úteis para iniciar o processo de biodegradação (Jakubowicz *et al.*, 2006).

Degradação mecânica

A degradação mecânica pode acontecer devido a forças de compressão, tensão e/ou de cisalhamento. Por isso, os termoplásticos podem sofrer vários tipos de degradação mecânica em condições de ar livre (p.e. filmes de túneis baixos, *mulches*, etc.) (Briassoulis, 2004, 2006, 2007). Muitas vezes, os danos não são visíveis a nível macroscópico, mas a nível molecular a degradação pode já ter começado (Duval, 2004). Os fatores mecânicos não são predominantes durante o processo de biodegradação, mas os danos que causam podem ativá-la ou acelerá-la (Briassoulis, 2005).

Degradação pela luz

Vários materiais poliméricos são fotossensíveis. A energia transportada por fotões pode criar instabilidade em várias moléculas. Por vezes, não intencionalmente, a resistência do material pode ser afetada por impurezas presentes nos polímeros. Noutros casos, são adicionadas à estrutura polimérica estruturas moleculares fotossensíveis para induzir a degradação macromolecular pela luz (p.e. agentes pro-oxidantes que podem ser ativados dependendo da intensidade da luz e tempo de exposição) (Kounty *et al.*, 2006; Wiles e Scott, 2006). A fotodegradação é a degradação abiótica mais eficiente que ocorre no ambiente (Lucas *et al.*, 2008). A forma menos dispendiosa, fácil de testar e mais próxima das condições reais é a exposição ao ar livre (Abd El-Rehim *et al.*, 2004).

Degradação térmica

A degradação térmica dos polímeros termoplásticos ocorre à temperatura de fusão do plástico, quando o polímero sofre transformação de sólido a líquido (Lucas *et al.*, 2008). Geralmente, a temperatura ambiente é mais baixa que o ponto de fusão dos polímeros termoplásticos. Contudo, alguns polímeros termoplásticos como MB exibem temperaturas de fusão próximas das condições ambientais, tal como acontece na fase termófila da compostagem (Lucas *et al.*, 2008).

Degradação química

A transformação química é também importante na degradação abiótica. Poluentes atmosféricos e agroquímicos podem interagir com os polímeros alterando as propriedades das macromoléculas (Briassoulis, 2005). Entre os químicos que provocam a degradação dos materiais, o oxigénio é o mais eficaz. A forma atmosférica do oxigénio (i.e., O₂ ou O₃) ataca as ligações covalentes produzindo radicais livres dependendo a degradação oxidativa da estrutura polimérica (Duval, 2004). Esta oxidação pode acontecer em simultâneo com a degradação pela luz.

A hidrólise é outro tipo de degradação química que os polímeros podem sofrer (Muller *et al.*, 1998; Tsuji e Ikada, 2000; Yi *et al.*, 2004). Esta depende de parâmetros como a atividade da água, a temperatura, o pH e o tempo. Estruturas moleculares bem organizadas no domínio cristalino, dificultam a difusão do O₂ e H₂O, limitando desta forma a degradação química. Degradações oxidativas e hidrolíticas num dado material são mais fáceis em regiões moleculares desorganizadas (domínio amorfo) (Lucas *et al.*, 2008).

2.2.2. Biodeterioração

A biodeterioração é uma degradação superficial que modifica as propriedades mecânicas, físicas e químicas de um dado material. Os fatores abióticos que provocam deterioração foram referidos anteriormente. A biodeterioração é maioritariamente resultante da atividade de microrganismos – como algas, bactérias, protozoários e fungos –, que crescem na superfície e/ou dentro de um dado material (Hueck, 2001; Walsh, 2001). Os microrganismos agem por meios mecânicos, químicos e/ou enzimáticos (Gu, 2003). O desenvolvimento de diferentes espécies microbianas aumenta a biodeterioração facilitando desta forma a produção de moléculas simples (Crispim e Gaylarde, 2005).

Por via física

As espécies microbianas podem aderir à superfície do material devido à secreção de uma espécie de cola (Capitelli *et al.*, 2006), que se infiltra nas estruturas porosas e altera o tamanho e a distribuição dos poros, criando fendas, influenciando os teores de humidade e as transferências térmicas. A função da cola é proteger os microrganismos contra condições desfavoráveis (p.e. dissecação e radiação UV). Microrganismos filamentosos desenvolvem os seus micélios no interior dos materiais, aumentando o tamanho dos poros e provocando

fendas. Assim, a resistência e durabilidade do material são enfraquecidas (Bonhomme *et al.*, 2003).

Por via química

Os polímeros extracelulares produzidos pelos microrganismos podem atuar como surfactantes que facilitam as trocas entre as fases hidrofóbicas e hidrofílicas (Lucas *et al.*, 2008). De acordo com Warscheid e Braams (2000), a presença destas substâncias aumenta a acumulação de poluentes atmosféricos, a qual favorece o desenvolvimento de microrganismos e acelera a biodeterioração. Cada tipo de flora microbiana que se desenvolve com sucesso no material contribui para a biodeterioração química. Bactérias quimiolitotróficas usam compostos inorgânicos (p.e. amoníaco, nitritos, sulfureto de hidrogénio, tiosulfatos e enxofre elementar) como fonte de energia e eletrões (Regnault, 1990), libertando compostos químicos ativos, como ácido nítrico e sulfúrico (Warscheid e Braams, 2000; Crispim e Gaylarde, 2005). Microrganismos quimiorganotróficos usam substratos orgânicos como fonte de carbono, energia e eletrões, com libertação de ácidos orgânicos (Pelmont, 2005).

Outra via química de biodeterioração ocorre quando a água entra na matriz polimérica, o que pode ser acompanhado de um intumescimento. A intrusão da água inicia a hidrólise do polímero, levando à criação de oligómeros e monómeros. A degradação progressiva altera a microestrutura da matriz devido à formação de poros; depois os oligómeros e os monómeros são libertados. Simultaneamente, o pH dentro dos poros é modificado pelos produtos da degradação, que normalmente têm algumas características de ácido-base (Göpferich, 1996). Estes ácidos têm várias formas de ação. Alguns podem reagir com componentes do material e aumentar a erosão da superfície destes (Lugauskas *et al.*, 2003). A biodeterioração química também pode ser resultante de processos de oxidação. Algumas bactérias quimiolitotróficas e alguns fungos podem absorver catiões de ferro e/ou manganês da matriz por reações de oxidação (Lucas *et al.*, 2008).

Por via enzimática

A biodeterioração de polímeros termoplásticos pode ocorrer por dois mecanismos diferentes, i.e., erosão em massa e erosão superficial (Pepic *et al.*, 2008). No caso da erosão em massa, os fragmentos são perdidos da massa polimérica e o peso molecular muda devido à quebra de ligações. Na erosão superficial, há perda de matéria, mas não há mudança no peso molecular dos polímeros da matriz (Pepic *et al.*, 2008).

2.2.3. Biofragmentação

A fragmentação é um fenómeno necessário para a fase subsequente, a assimilação. Um polímero é uma molécula com elevado peso molecular, incapaz de atravessar a parede celular e/ou a membrana citoplásmica. É indispensável a quebra de várias ligações para ser obtida uma mistura de oligómeros e/ou monómeros. A energia para conseguir as cisões pode ter diferentes origens: térmica, luminosa, mecânica, química e/ou biológica (Lucas *et al.*, 2008). Os microrganismos usam diferentes métodos para quebrar polímeros: segregam enzimas específicas ou geram radicais livres.

Hidrólise enzimática

A biofragmentação deve-se sobretudo a enzimas que pertencem a oxiredutases e hidrolases. As celulasas, amilases e cutinases são hidrolases rapidamente sintetizadas por microrganismos do solo para hidrolisar os polímeros naturalmente abundantes (p.e. celulose, amido e cutina). Estes polímeros são, em alguns compósitos industriais, integrados nos poliésteres para aumentar a biodegradabilidade destes (Chandra e Rustgi, 1998).

Oxidação enzimática

Quando as reações de cisão realizadas por enzimas específicas são difíceis, nomeadamente na área cristalina ou zonas hidrofóbicas dos materiais poliméricos, outras enzimas estão implicadas na transformação das estruturas moleculares. Por exemplo, mono-oxigenases e di-oxigenases incorporam, respetivamente, um e dois átomos de oxigénio, formando grupos álcool ou peroxil que são fragmentados mais facilmente, enquanto outras transformações são catalisadas por peroxidases originando moléculas mais pequenas (Lucas *et al.*, 2008).

Oxidação radical

O aumento do carácter higroscópico do composto polimérico favorece o ataque biológico. Além disso, algumas reações de oxidação catalisadas por várias enzimas produzem radicais livres que conduzem a reações em cadeia que aceleram as transformações do polímero (Muller *et al.*, 1998). Contudo, as estruturas cristalinas e as cadeias altamente organizadas de moléculas poliméricas não são favoráveis aos ataques enzimáticos uma vez que o acesso à parte interna destas estruturas é extremamente dificultado.

Um polímero é considerado fragmentado quando moléculas de baixo peso molecular são encontradas no meio (Lucas *et al.*, 2008).

2.2.4. Assimilação

A assimilação é o passo único no qual há uma integração real dos átomos dos fragmentos do material polimérico no interior das células microbianas. Esta integração traz aos microrganismos as fontes de energia, eletrões e elementos (carbono, azoto, oxigénio, fósforo, enxofre e outros) necessárias à formação da sua estrutura celular. A assimilação permite aos microrganismos crescer e reproduzir-se enquanto consomem o substrato nutritivo (p.e. materiais poliméricos) do ambiente (Lucas *et al.*, 2008). Naturalmente, as moléculas assimiladas podem ser resultantes de (bio)deterioração e/ou (bio)fragmentação prévia.

Geralmente, moléculas inorgânicas libertadas por microrganismos não representam risco de ecotoxicidade, uma vez que integram os ciclos biogeoquímicos. Pelo contrário, moléculas orgânicas microbianas excretadas ou transformadas podem apresentar efeitos ecotóxicos em algumas condições e em diferentes níveis (Lucas *et al.*, 2008).

A assimilação é geralmente estimada por métodos respirométricos standardizados (ISO 14852; Krzan *et al.*, 2006). Consiste na medição do consumo de oxigénio e evolução do dióxido de carbono. A diminuição do oxigénio é detetada pela diminuição de pressão (Massardier-Nageotte *et al.*, 2006). Contudo, o único método eficaz para estimar a assimilação em meios mais complexos, como solos, compostos ou areia, é usando um polímero marcado radioactivamente para fazer a respirometria $^{14}\text{CO}_2$. Mas o teste é perigoso e dispendioso (Rasmussen *et al.*, 2004).

2.2.5. Degradação de *mulches* biodegradáveis à base de Mater-Bi®, após incorporação no solo

A principal razão pela qual a degradação de FCS biodegradáveis no solo não pode prever-se deve-se ao facto de muitos deles serem certificados para cumprirem os padrões de biodegradação em condições de compostagem industrial, como já referido. Para além disso, não é conhecida a quantidade de resíduos do FCS que fica no solo e quais os efeitos que estes podem ter no ecossistema. Foram, por isso, sugeridos vários métodos para avaliar a degradação de FCS biodegradáveis à base de MB *in situ*. No caso do Agrobiofilm®, este foi testado em condições que simulam o solo e foi certificado como OK para degradação no solo (VINÇOTTE – CERTEST PRODUCTS, 2016).

Em condições de campo, a taxa de degradação de FCS é frequentemente medida através da perda de peso do material ao longo do tempo, o que exige uma limpeza cuidadosa para garantir que nenhum material é perdido, favorecendo assim a estimativa da sua degradação, nem ocorre a adição de materiais estranhos (Calmon *et al.*, 1999; Scarascia-Mugnozza *et al.*, 2006; Briassoulis, 2007; Liu *et al.*, 2010; Costa, 2014; Moreno *et al.*, 2017). No caso de materiais incorporados no solo, é usual colocar amostras destes em pequenas redes de forma a facilitar a sua recolha e posterior limpeza e pesagem (Briassoulis, 2007; Costa, 2014). Contudo, esta estrutura pode interferir no desenvolvimento natural do processo (Moreno *et al.*, 2017). No entanto, de acordo com Calmon *et al.* (1999) e Moreno *et al.* (2017), a perda de peso não é um indicador adequado para medir a degradação dos FCS após incorporação no solo. Com efeito, mesmo após uma exaustiva limpeza, uma grande percentagem do peso dos fragmentos recuperados do solo, corresponde a material estranho (80% solo, areia, entre outros) (González *et al.*, 2003; Briassoulis *et al.*, 2010, 2012).

Outro processo para quantificar a taxa de degradação de FCS é através da monitorização fotográfica e análise subsequente usando programas de processamento de imagem (Calmon *et al.*, 1999; Briassoulis *et al.*, 2007; Moreno *et al.*, 2017). Calmon *et al.* (1999) consideraram que esta metodologia permite a obtenção de informação adequada acerca de poluição visível, requerendo apenas uma limpeza rudimentar e, portanto, mais rápida das amostras.

Calmon *et al.* (1999) compararam a degradação de 20 tipos de FCS, incluindo um à base de amido com aditivos biodegradáveis, com duas espessuras, 35 e 116 μm , 24 meses após a incorporação no solo, em quatro regiões de França. Os resultados obtidos para o filme à base de amido com aditivos biodegradáveis encontram-se no Quadro 2.1.

Quadro 2.1. Percentagem de perda de peso obtida para um FCS à base de amido com aditivos biodegradáveis com espessuras de 35 e 116 μm , em quatro locais de incorporação no solo, após 2 anos. Adaptado de Calmon *et al.* (1999)

| Filme à base de | Espessura (μm) | Perda de peso (%) | | | | Biodegradabilidade |
|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------|--------|----------|-------------|-------------------------------|
| | | Toulouse | Rennes | Clermont | Montpellier | |
| Amido com aditivos biodegradáveis | 35 | 99 | 80 | 78 | 72 | Biodegradabilidade intermédia |
| | 116 | 52 | 37 | 40 | 32 | Biodegradabilidade intermédia |

Calmon *et al.* (1999) observaram que quanto mais fina era a amostra, maior o nível de degradação. O comportamento do material foi também, em geral, o mesmo independentemente da localização, apesar da maior perda de peso observada em Rennes, Toulouse ou Clermont que em Montpellier, devido às condições climáticas. Com efeito,

Montpellier, com um clima mediterrânico, apresenta períodos de secas longas alternados com períodos de chuvas fortes, aspetos que podem afetar os processos de degradação abiótica. Scarascia-Mugnozza *et al.* (2006) avaliaram a degradação de 3 FCS biodegradáveis à base de MB (M1, M2 e M3) no sul de Itália. Estes filmes podiam conter 30 a 90% de matéria-prima renovável, dependendo da aplicação e desempenho pretendido. As características destes filmes encontram-se no Quadro 2.2.

Quadro 2.2. Características dos FCS testados. Adaptado de Scarascia-Mugnozza *et al.* (2006)

| | M1 preto | M2 preto | M3 preto |
|---------------------------------|----------|----------|----------|
| Espessura média (µm) | 45 | 35 | 25 |
| Largura do filme (mm) | 1400 | 1400 | 1400 |
| Densidade (kg/dm ³) | 1,29 | 1,29 | 1,29 |

Em setembro de 2001, os filmes M1, M2 e M3 foram instalados em cobertura de solo para a produção de morango (*Fragaria x ananassa*). Após a última colheita, em final de julho de 2002, os filmes foram incorporados no solo, juntamente com os resíduos de cultura. Os autores verificaram que 12 meses após a incorporação, o peso dos resíduos dos filmes presentes no solo era menor que 4% do peso inicial do filme instalado.

Briassoulis (2007) também testou *mulches* biodegradáveis à base de MB em condições reais de campo, durante o período 2002-2005 em quatro locais diferentes na Europa: Itália, Grécia, França e Alemanha. Todos os filmes eram pretos e com espessuras de 15, 12, 15 e 12 µm, respetivamente, tendo sido denominados pelos códigos M1, M2, M3 e M4. A biodegradabilidade destes filmes foi avaliada indiretamente através da monitorização da perda de peso de amostras recolhidas do campo. A evolução da degradação/biodegradação estimada foi monitorizada por meio de uma técnica de análise de imagem – as amostras biodegradadas foram fotografadas e as imagens processadas para avaliar a taxa de biodegradação (Figura 2.3). Esta foi expressa em percentagem de material remanescente.

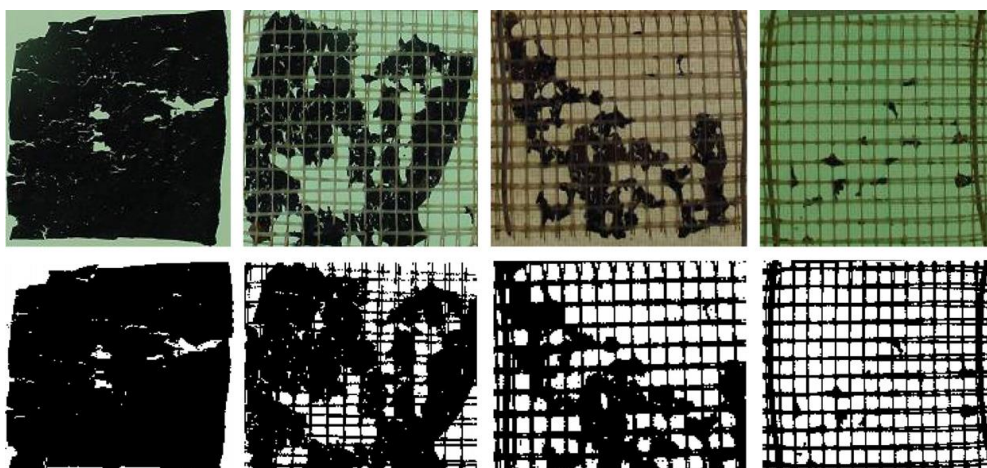


Figura 2.3. Evolução da degradação no solo de FCS biodegradável usando uma técnica de processamento de imagem. Fonte: Briassoulis (2007)

Briassoulis (2007) observou que a biodegradação estimada dos filmes à base de MB no período de 2002-2005 foi muito positiva sob condições favoráveis, mas mostrou-se dependente das condições do solo. O autor referido verificou, ainda, que estes filmes se degradam normalmente num período de 6-12 meses, indicando uma taxa de biodegradação rápida. Já a perda de peso observada foi parcialmente atribuída à biodegradação em condições reais, uma vez que pequenos fragmentos do filme podem ter permanecido no solo, aí continuando a sua biodegradação. Concluiu também que o oxigénio e a água são fatores cruciais no ataque dos microrganismos ao filme à base de MB no solo, o qual é fortemente inibido em condições de encharcamento (ausência de oxigénio) ou de períodos de seca no verão (baixo teor de humidade). A degradação no solo processou-se mais rapidamente em condições de temperatura e teores de humidade mais elevados.

Liu *et al.* (2010) testaram 3 filmes biodegradáveis (*a*, *b* e *c*) produzidos à base de amido desestruturado complexado com poli (ϵ -caprolactona) (PCL). Este é um polímero totalmente degradável que não polui o ambiente e pode decompor-se rapidamente. O filme biodegradável *a* tinha 10 μm de espessura, 20% de amido modificado e 40% de PCL com aditivos pro-oxidantes; o *b* tinha 10 μm de espessura, 30% de amido modificado e 50% de PCL com aditivos pro-oxidantes e o *c* tinha 15 μm de espessura, 40% de amido modificado e 60% de PCL com aditivos pro-oxidantes. Adicionalmente, foi usado um filme plástico comum de 8 μm de espessura de PE, como controlo. O teste de incorporação no solo foi conduzido em vasos, de julho a outubro de 2008. Diferentes amostras de filme (60 x 60 mm) foram pesadas e incorporadas no solo a 22 cm de profundidade. Após um período de tempo de 30, 60, 75 ou 90 dias, as amostras foram recolhidas, lavadas com etanol e água e secas numa estufa a vácuo a 50°C até peso constante.

Liu *et al.* (2010) observaram que, conforme o tempo de exposição, o peso dos três FCS diminuiu gradualmente, sendo a percentagem de perda de peso do filme *c* > filme *b* > filme *a* (Figura 2.4). Em contraste, o filme plástico comum mostrou-se quase inalterado. Em dois meses, o filme biodegradável *c* atingiu 50% de perda de peso e ao fim de 90 dias não era praticamente visível no solo, correspondendo a 97,5% de perda de peso.

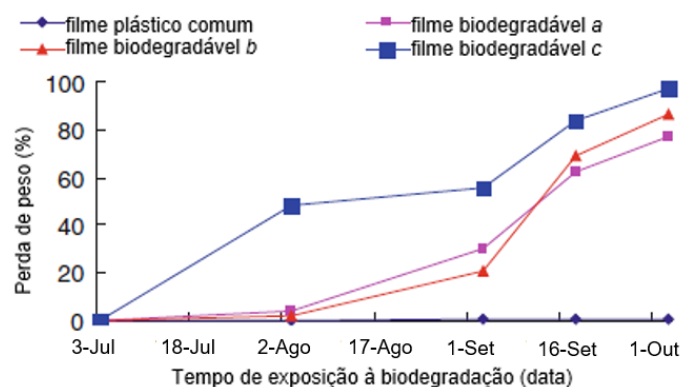


Figura 2.4. Evolução da perda de peso com o tempo de exposição de quatro filmes de cobertura de solo durante o período experimental de incorporação no solo. Adaptado de Liu *et al.* (2010)

Os autores referidos concluíram que nos FCS biodegradáveis em contacto com o solo, os microrganismos se “alimentavam” das partículas originais de amido e causavam posteriormente degradação de outros componentes, deixando uma espécie de superfície porosa, mais suscetível à degradação. Tal corrobora o verificado por Scarascia-Mugnozza *et al.* (2006), de que a degradação mecânica dos filmes biodegradáveis se inicia pelo componente amido do material.

Costa *et al.* (2014) conduziram ensaios no campo na região do Ribatejo, Portugal, durante um ciclo cultural de morango para avaliar o desempenho de 5 *mulches* à base de polímeros biodegradáveis quando comparados com um PE convencional, e estimar a biodegradabilidade dos *mulches* em condições laboratoriais e de campo. O solo, um fluvisso, de textura argilosa-arenosa, apresentava um teor baixo de MO (1%) e um pH (H₂O) ligeiramente ácido (5,5-6,5). O clima, de acordo com a classificação climática de Köppen, caracterizava-se por verões quentes e secos e invernos chuvosos. No quadro 2.3 podem-se observar as características dos filmes avaliados.

Quadro 2.3. Características dos FCS avaliados por Costa *et al.* (2014)

| Modalidade | Espessura (μm) | Cor | Características |
|----------------|-----------------------------|-------------------|---|
| Agrobiofilm® 1 | 18 | Preto | Matéria-prima MB 100% virgem |
| Agrobiofilm® 2 | 18 | Preto | Matéria-prima MB com material reciclado |
| Agrobiofilm® 3 | 20 | Prateado em preto | Matéria-prima MB 100% virgem |
| Agrobiofilm® 4 | 20 | Branco no preto | Matéria-prima MB 100% virgem |
| NF | 18 | Preto | Matéria-prima MB categoria NF |
| PE | 35 | Preto | Filme convencional |

Amostras dos filmes foram colocadas em redes de plástico (20 x 20 cm) e enterradas a uma profundidade de 20 cm e a um ângulo de 20° para evitar a acumulação de água, durante 5 meses, de abril a setembro de 2012. Usando o software de imagem ImageJ, os autores mediram a área perdida, após a remoção das amostras de filmes do solo e sua lavagem para remover solo e raízes aderentes (Figuras 2.5 e 2.6). Três réplicas de redes com os FCS biodegradáveis eram retiradas do solo, por modalidade, em cada um dos 5 meses.

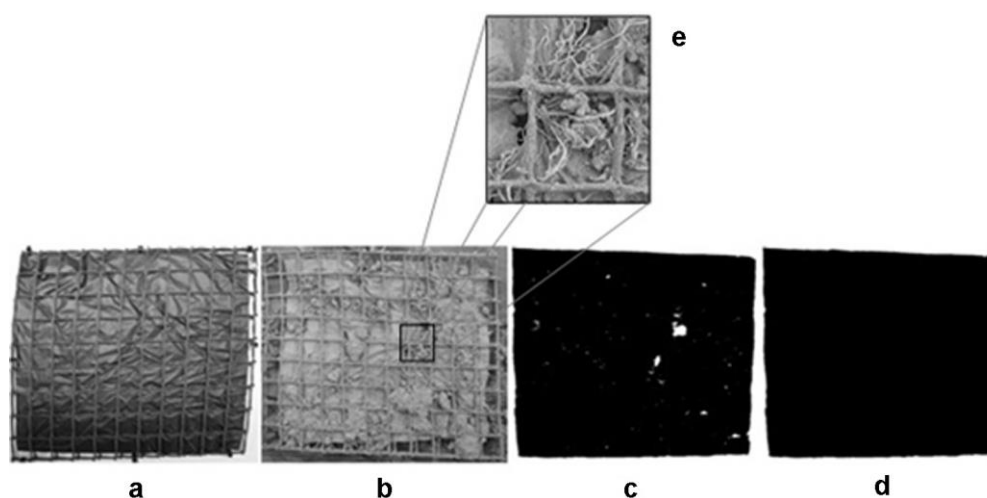


Figura 2.5. Exemplo do Agrobiofilm® 3, antes do enterramento (a), depois da remoção do solo (b), imagem processada com ImageJ (c, d) – (e) detalhe das raízes na superfície do FCS depois da remoção do solo (b). O rácio entre as áreas (c) e (d) dá a percentagem de área perdida. Fonte: Costa *et al.* (2014)

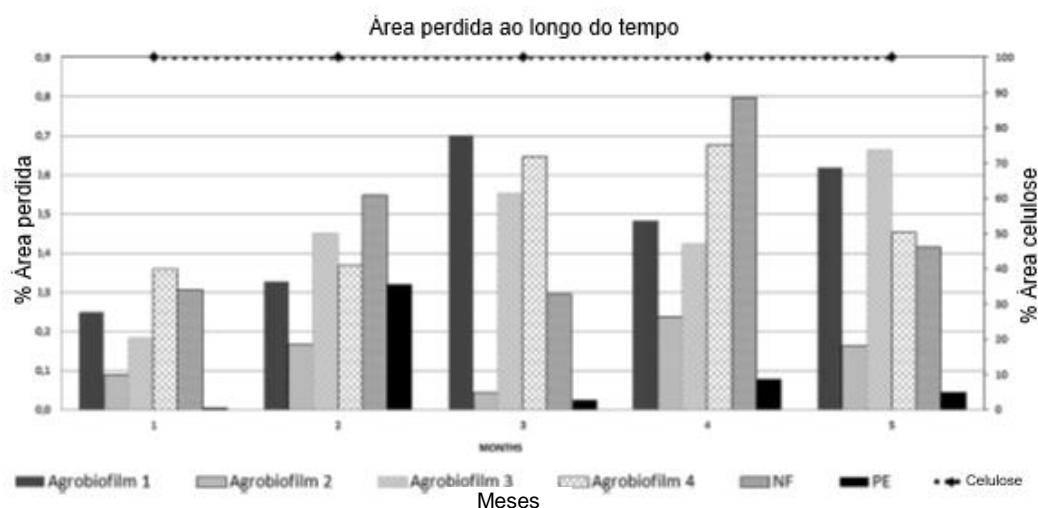


Figura 2.6. Percentagem de área perdida no teste de biodegradação em condições de campo para todas as modalidades. Nota: há uma escala diferente no lado direito do gráfico porque a perda de área dos FCS é mais baixa quando comparada com a da celulose. Adaptado de Costa *et al.* (2014)

A medição da extensão de área perdida mostrou a inexistência de efeitos de interação significativa entre os FCS e o tempo de permanência no solo. Os autores consideraram que tal se deveu ao facto de ter chovido apenas nos dois primeiros meses do ensaio, desencadeando o início da biodegradação, a qual não progrediu pois, após esse período, o solo tornou-se muito seco. Contudo, quando removidos do solo, os filmes biodegradáveis estavam muito frágeis, mesmo apesar do baixo valor de biodegradação (Costa *et al.*, 2014).

Moreno *et al.* (2017) avaliaram o padrão de deterioração de um FCS à base de MB, preto, com 15 µm de espessura e 1,20 m de largura. O FCS foi colocado mecanicamente no terreno em maio de 2014, em camalhões de aproximadamente 0,8 m de largura. Os restantes 0,2 m de ambos os lados do camalhão foram enterrados no solo. A cultura foi o pimento (*Capsicum annuum* cv. Infantes). O solo era arenoso-argiloso, moderadamente básico (pH (H₂O) = 8,2), não salino e com um baixo teor de MO (1,6%). O estudo foi conduzido numa região de clima continental mediterrânico, com um período de 4 meses secos no verão, coincidindo com altas temperaturas.

Após o fim do ciclo cultural do pimento, o FCS foi incorporado no solo, a 5 de novembro de 2014. Aos 0, 70, 160 e 200 dias após a incorporação, amostras de solo foram recolhidas de forma a avaliar a evolução dos resíduos do filme. A cada data de colheita de amostra, três subamostras cilíndricas de solo, de 8,95 cm de profundidade e 5,75 cm de diâmetro (232,3 cm³), foram aleatoriamente recolhidas de cada parcela experimental. Todos os fragmentos de filme foram cuidadosamente extraídos das amostras de solo, limpos por agitação suave em água destilada, secos até peso constante e pesados. Subsequentemente, foram dispostos

num fundo branco e fotografados. As imagens foram analisadas usando o software ImageJ. A escala para cada imagem foi estabelecida desenhando uma linha entre dois pontos conhecidos, a 100 mm de distância. Assim, o número de fragmentos e a superfície de cada um foram diretamente obtidos para cada amostra. Adicionalmente, a evolução dos índices de peso e de superfície foi registrada como percentagem dos valores iniciais da amostra (5 de novembro).

Os autores observaram que a perda de peso ocorreu mais lentamente que a da superfície (Figura 2.7) provavelmente porque partículas de solo podiam contaminar os fragmentos. Calmon *et al.* (1999) obtiveram resultados opostos porque compararam dois FCS com diferentes espessuras. O material mais espesso foi degradado primeiro, conduzindo a uma diminuição acentuada do peso, mas sem modificação na aparência da superfície original.

No Quadro 2.4 consta um resumo dos resultados obtidos relativos ao FCS à base de MB avaliados por Moreno *et al.* (2017), 200 dias após a incorporação no solo.

Quadro 2.4. Resumo dos resíduos de FCS à base de MB ao fim de 200 dias após incorporação no solo. Adaptado de Moreno *et al.* (2017)

| Tratamento | Média | | | Número de fragmentos | | Superfície dos fragmentos (mm ²) | |
|------------|-------------------------------|------------------------|-----------------------------------|----------------------|--------|--|--------|
| | Superfície (mm ²) | Peso (mg) ¹ | Número de fragmentos ¹ | Mínimo | Máximo | Mínimo | Máximo |
| MB | 257 | 10,95 | 3 | 0 | 18 | 0,43 | 2664 |

Dados obtidos de 12 cilindros (232,3 cm³ cada um) para cada material.

¹Não significativo. Teste de Friedman não paramétrico ao nível de significância de 0,055.

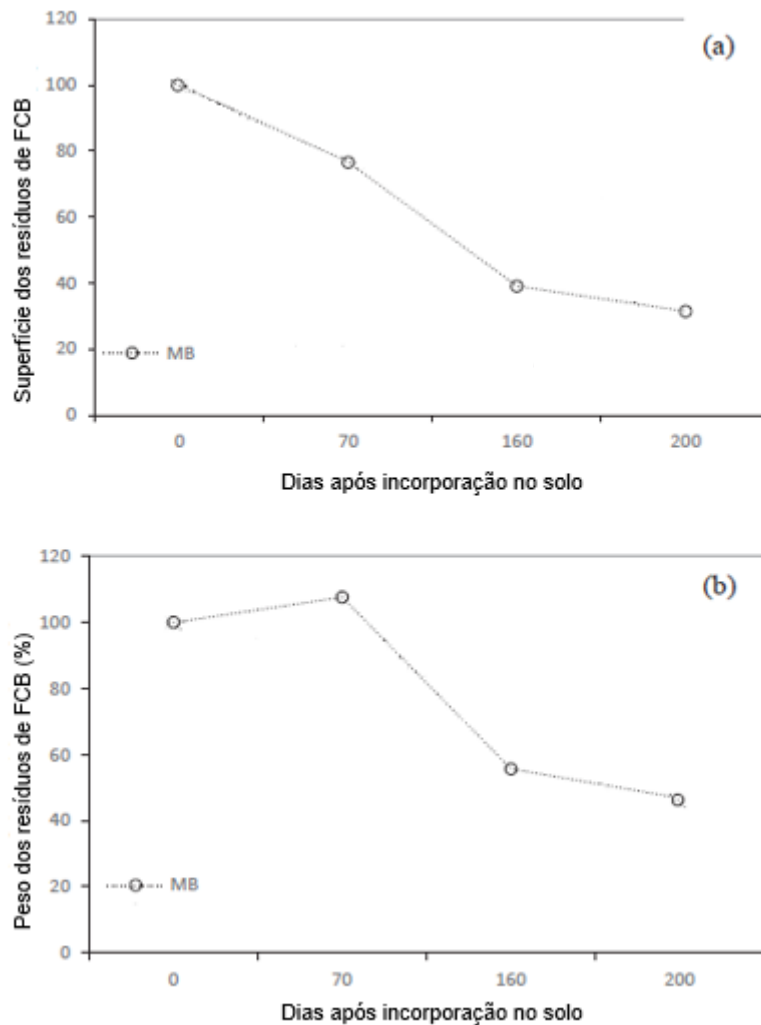


Figura 2.7. Evolução dos resíduos do FCS à base de MB após incorporação no solo: a) superfície b) peso. Os dados foram expressos em percentagem em relação à primeira data de amostragem (5 de novembro). Adaptado de Moreno *et al.* (2017)

Os autores concluíram ainda que o índice de peso não é um bom indicador da degradação dos FCS, sendo a avaliação da superfície coberta mais representativa do processo.

Um FCS biodegradável à base de MB sofre maior biodegradação quando se reúne uma série de características intrínsecas (do filme) e extrínsecas (do meio onde é inserido). Assim, espessura fina, conteúdo em partículas de amido, aditivos pro-oxidantes, um teor significativo de matéria-prima renovável, um ambiente climático favorável, as características do solo (condições aeróbicas, teor de MO, valores de pH, salinidade), temperatura e humidade elevadas no solo e tempo de permanência, são condições que favorecem grandemente a biodegradação deste material. As características intrínsecas do FCS biodegradável podem ser otimizadas em laboratório para se adequarem a tipos específicos de ambientes climáticos

e características de solo, para ser cada vez mais rápida e eficaz a sua biodeterioração, biofragmentação e assimilação pelos microrganismos presentes no meio onde serão incorporados. Além disso, o FCS deve ser certificado como “OK Biodegradable Soil” para poder ser incorporado no solo (Vinçotte – Certest Products, 2016). Desta forma, parece estar cada vez mais próxima a produção ideal de vários materiais com interesse comercial – as mesmas qualidades presentes nos FCS convencionais – e ambiental – materiais capazes de interagir em simbiose com a natureza, protegendo-a e até melhorando-a.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Enquadramento experimental

O trabalho realizado deu continuidade ao estudo conduzido por Paulino (2017), que avaliou entre 2 de junho e 17 de novembro de 2016 (168 dias) o desempenho de um FCS biodegradável num ciclo cultural de pimento picante (*Capsicum annuum* var. Santaka), numa parcela de terreno situada junto do Chalé de Agricultura do Instituto Superior de Agronomia, distrito de Lisboa (38° 42' 45.7" N, 9° 11' 03.2" W) (Figura 3.1).

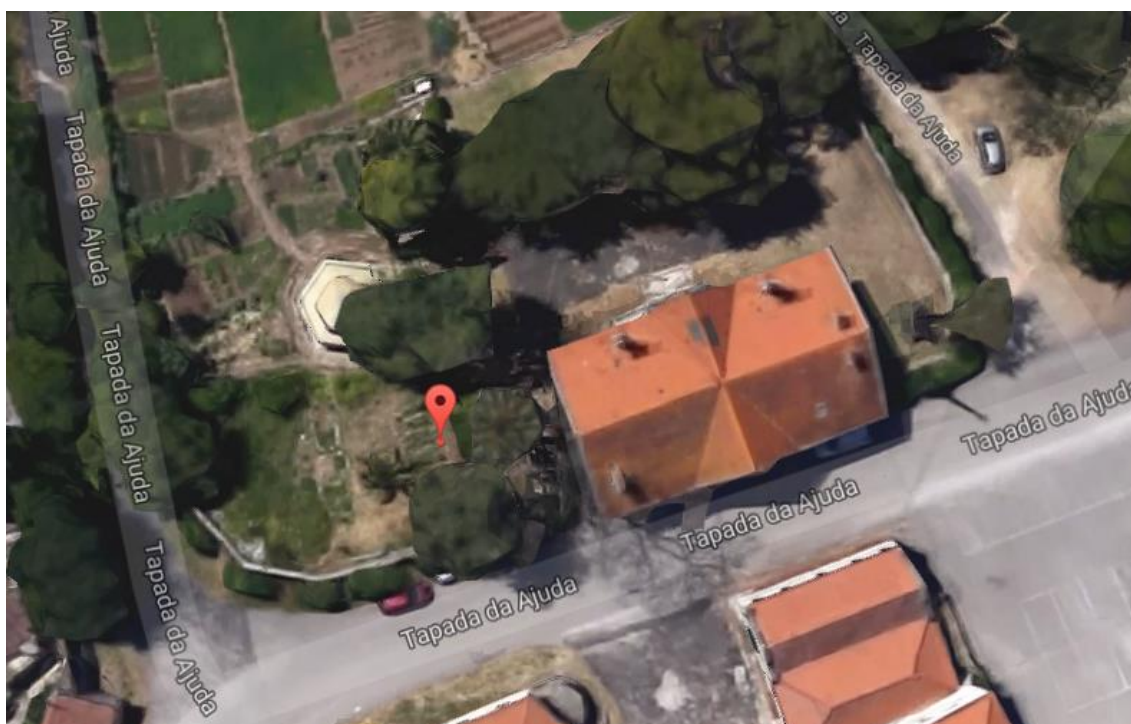


Figura 3.1. Localização do talhão de terreno, no Instituto Superior de Agronomia, no concelho de Alcântara, distrito de Lisboa (38° 42' 45.7" N, 9° 11' 03.2" W) onde foi conduzido o estudo experimental. Fonte: Google Maps (2017)

A cultura foi conduzida em 4 camalhões. Cada um deles foi coberto, a 31 de maio de 2016, com uma faixa de FCS biodegradável, com 1,75 m de largura e 2,50 m de comprimento, perfazendo um total de 17,5 m² de Agrobiofilm®. Este material, com formulação de MB, cor preta e espessura de 12 µm, foi fornecido pela empresa Silvex, sendo certificado como biodegradável e compostável (NF U52-001, 2005; Agrobiofilm, 2013). É ainda de referir que nesta parcela nunca foi utilizado qualquer tipo de FCS biodegradável ou não.

O peso teórico deste FCS biodegradável por m² era de 15 g (Silvex, comunicação pessoal). Porém, ao pesarem-se vários fragmentos de forma quadrada, com 4 cm de largura, obteve-se uma média de 0,0252 g por 16 cm², ou seja 15,75 g/m². O peso de 17,5 m² do FCS biodegradável utilizado foi, assim, de 275,625 g.

Na Figura 3.2. apresenta-se o aspeto do FCS biodegradável remanescente na data da última colheita de pimento picante, a 17 de novembro de 2016, antes da incorporação no solo.

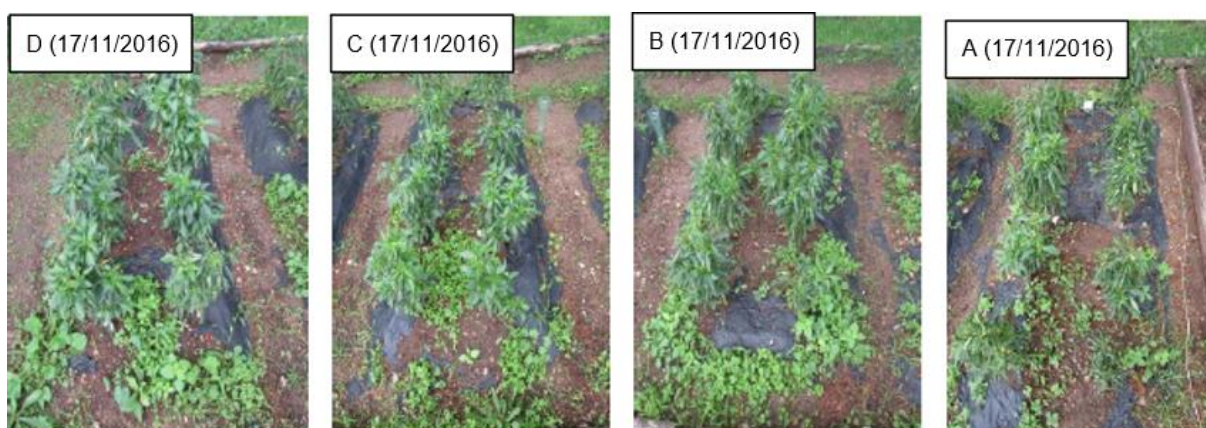


Figura 3.2. Aspeto do FCS biodegradável usado na cultura de pimento picante à data da última colheita. Foto: Paulinho (2016)

No dia 6 de dezembro de 2016, após o ciclo cultural de 7 meses de pimento picante, o FCS biodegradável remanescente à superfície dos camalhões foi incorporado no solo juntamente com os resíduos da cultura, com enxada manual a uma profundidade até cerca de 15 cm (Figura 3.3). 15 dias após a incorporação do FCS biodegradável, a 21 de dezembro de 2016, registou-se fotograficamente o aspeto de um dos camalhões (Figura 3.4).



Figura 3.3. Aspeto dos camalhões após a incorporação no solo do FCS biodegradável remanescente, juntamente com os resíduos de cultura, no dia 6 de dezembro de 2016. Foto: Paulino (2017)



Figura 3.4. Aspeto de um camalhão 15 dias após incorporação do FCS biodegradável (21 de dezembro de 2016). Foto: Paulino (2017)

Durante 8 meses, o solo e os resíduos do FCS biodegradável nele incorporado foram sujeitos às condições climáticas que a seguir se apresentam.

3.2. Caracterização climática

O clima da região de Lisboa corresponde a um clima mediterrânico do tipo Csa, que, segundo a classificação climática de Köppen, trata-se de um clima mesotérmico húmido de verões quentes e secos. Num ano normal, o período seco ocorre entre junho e setembro, com uma temperatura média anual de 16,5°C (Andrade e Abreu, 2008). De acordo com a classificação climática de Thornthwaite, o clima da Tapada é caracterizado como sub-húmido seco, mesotérmico, com algum excesso de água no inverno e pequena concentração estival de eficiência térmica: C1 B'3 s a' (Oliveira, 2013).

Observando-se o diagrama ombrotérmico da Figura 3.5, conclui-se que o verão é tipicamente quente e seco nesta região, sendo este o período mais crítico para as plantas em termos de exigência hídrica, devido à baixa ocorrência de precipitação nos meses quentes (Oliveira, 2013). A precipitação total anual atinge uma média de 674,5 mm, sendo a média mensal mais elevada observada em dezembro, com 113 mm, e a mais baixa em julho, com 5,5 mm. Relativamente à temperatura, o valor médio anual é de 16,4°C, com a média mais elevada registada em agosto (27,9°C) e a mais baixa em janeiro (7,4°C).

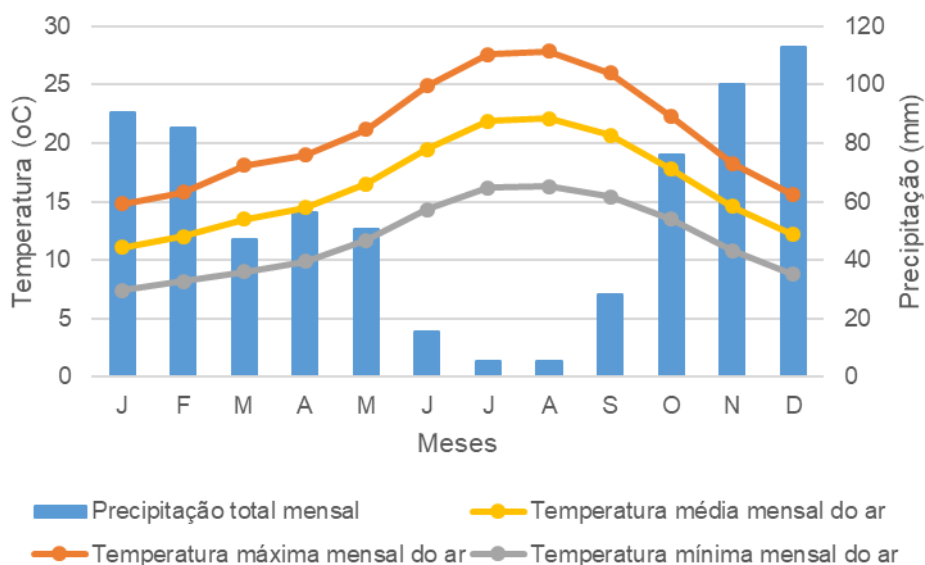


Figura 3.5. Diagrama Ombrotérmico de Gaussen para a Tapada da Ajuda. Adaptado de Normais Climáticas da Tapada da Ajuda, 1971/2000. Fonte: Estação Agrometeorológica do ISA/IM (Anexo A)

Observando o diagrama ombrotérmico relativo ao período em que o FCS permaneceu enterrado (6 de dezembro de 2016 a 1-3 de agosto de 2017) (Figura 3.6), é possível constatar

que as temperaturas foram crescentes de janeiro a agosto, mas a precipitação não mostrou o mesmo comportamento, notando-se em abril uma precipitação muito baixa quando comparada com o mês anterior e o mês seguinte. O ano de 2017 revelou-se, então, um ano atípico. A partir de junho, a precipitação foi mesmo muito baixa (só se consideraram os primeiros três dias de agosto).

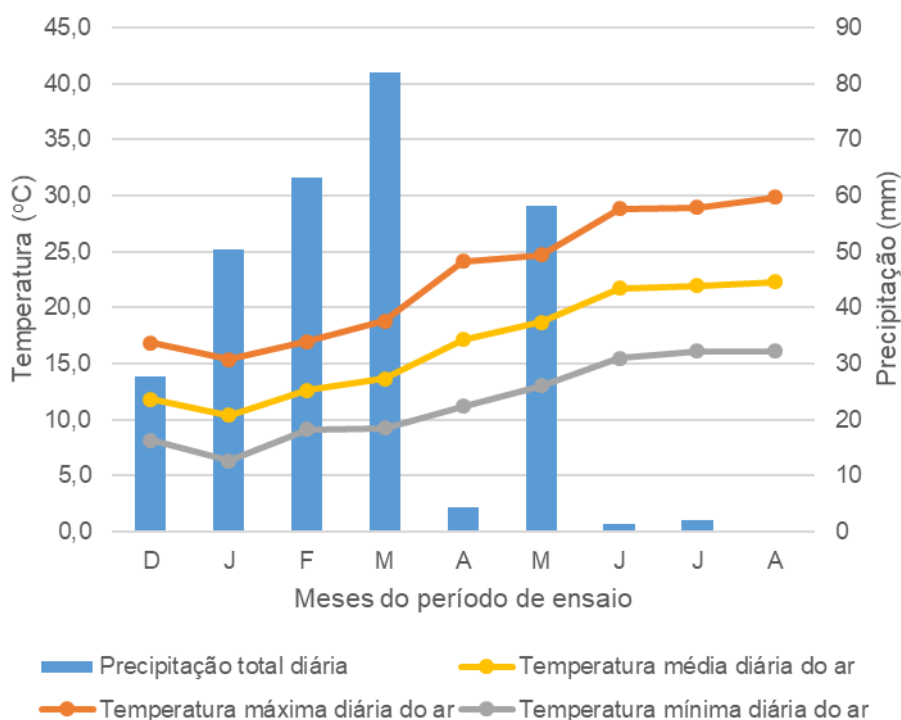


Figura 3.6. Diagrama Ombrotérmico de Gaussen para a Tapada da Ajuda. Dados obtidos a partir da média aritmética dos valores diários observados pela Estação Meteorológica automática Lisboa/Tapada da Ajuda (Latitude, 38° 42' N, Longitude, 9° 11' W, Altitude, 60 m). Fonte: IPMA (Anexo B). Nota: no dia 31 de janeiro de 2017 houve uma falha de medição do valor da precipitação, pelo que não foi contabilizado no cálculo da média da precipitação desse mês

No período de tempo em que decorreu o ensaio, verificou-se uma precipitação total de 289,3 mm – menos do que a média de 356,9 mm para o mesmo período –, tendo o máximo ocorrido em março com 63,2 mm, mais 15,9 mm do que a média para março, e o mínimo em junho com 2,2 mm, a média seria 5,5 mm. Quanto à temperatura, registou-se uma média de 17,3°C durante os 8 meses de ensaio. As temperaturas mais elevadas verificaram-se no mês de agosto, com uma média de 29,9°C, mais 2°C que a média para agosto no período de 1971-2000, e as mais baixas em janeiro, com uma média de 6,5°C, correspondendo a 0,9°C mais baixa que a média para janeiro do período de 30 anos.

Quanto à radiação solar global, os valores atingiram os máximos nos meses quentes, com $28,7 \text{ MJ m}^{-2}$ em agosto, e os mínimos nos meses frios, com $7,7 \text{ MJ m}^{-2}$, como se pode observar na Figura 3.7.

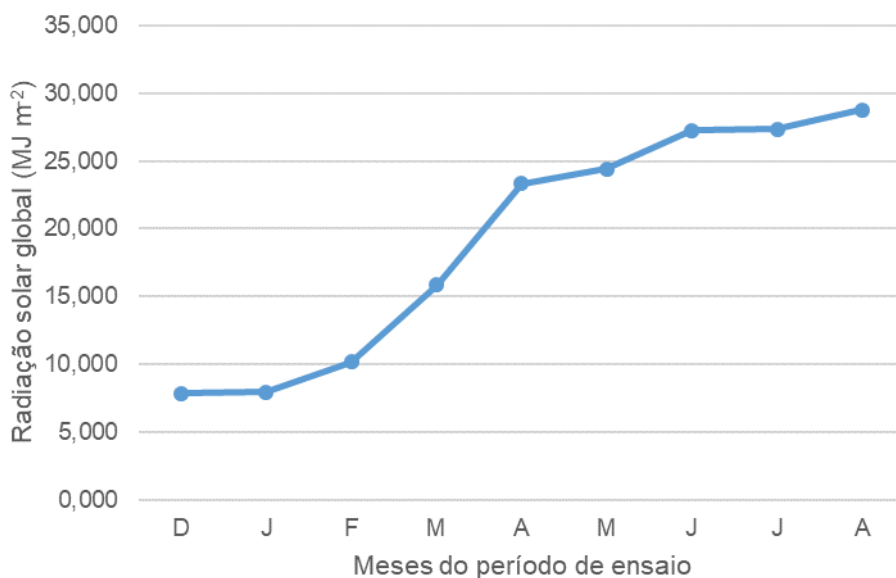


Figura 3.7. Evolução da radiação solar global (MJ m^{-2}), na Tapada da Ajuda. Dados obtidos a partir da média aritmética dos valores diários observados pela Estação Meteorológica automática Lisboa/Tapada da Ajuda (Latitude, $38^{\circ} 42' \text{ N}$, Longitude, $9^{\circ} 11' \text{ W}$, Altitude, 60 m). Fonte: IPMA (Anexo B)

Assim, durante 8 meses, os camalhões estiveram sujeitos a uma precipitação total de 289,3 mm, valor inferior ao total da soma das médias diárias da precipitação de dezembro a agosto para o período de 1971-2000 (469,9 mm), e uma radiação total de $172,876 \text{ MJ m}^{-2}$, aspetos fundamentais no progresso da biodegradação *in situ* do FCS biodegradável.

3.3. Classificação edáfica

O solo da Tapada da Ajuda tem uma textura franco-argilosa, sendo um Barro Castanho Avermelhado (Cb). Trata-se de um Vertisol, segundo o sistema de classificação de solos da World Reference Base for Soil Resource (WRBSR) (Andrade e Abreu, 2008). Estes caracterizam-se por terem um elevado teor de argilas, entre elas esmectites que conferem ao solo a capacidade de ficar endurecido e fendilhado quando seco e viscoso e plástico quando húmido (Ferreira, 2000).

Segundo a Carta de Solos de Portugal à escala 1:1.000.000, a parcela onde se realizou o ensaio experimental encontra-se numa mancha de solos do tipo vertissolos crómicos (Cardoso *et al.*, 1971). Estes caracterizam-se por terem um elevado teor de argilas, entre elas as esmectites. Quando o solo se apresenta seco, exhibe fendas de retração, e quando se apresenta húmido, tem um comportamento plástico e exhibe viscosidade. Trata-se de um solo rico em componentes químicos e com teores moderados de MO (Ferreira, 2000). Contudo, na análise laboratorial realizada ao solo da parcela onde foi conduzido o ensaio (Quadro 3.1), os teores de MO não corresponderam aos expectáveis. É possível que o solo desta parcela tenha sofrido alguma alteração ao longo do tempo e do uso que lhe foi dado.

Quadro 3.1. Características físico-químicas do solo onde foi realizado o ensaio experimental

| Parâmetro | Teor | Resultado |
|--|--------|----------------|
| Textura | Franca | — |
| Densidade aparente (g/cm ³) | 1,12 | — |
| Capacidade de retenção de água (g/g) ¹ | 0,63 | — |
| pH (H ₂ O) ² | 7,80 | Pouco alcalino |
| MO (%) ³ | 0,89 | Muito baixo |
| Condutividade elétrica (mS/cm) ⁴ | 0,30 | Não salino |
| P ₂ O ₅ (mg/kg) ⁵ | 2,364 | Muito alto |
| K ₂ O (mg/kg) ⁵ | 562 | Muito alto |
| Mg (mg/kg) ⁶ | 589 | Muito alto |

¹ – Gravimetria;

² – Potenciometria numa solução solo:água 1:2,5 (Póvoas e Barral, 1992);

³ – Calculada com base na combustão, deteção de CO₂ por IV;

⁴ – Condutivimetria numa solução solo:água 1:2,5;

⁵ – Extração pelo método de Egner-Rhiem com determinação por Espectroscopia por Absorção Molecular (EAM) VIS/UV e fotometria de chama, respetivamente (Póvoa e Barral, 1992);

⁶ – Extração com acetato de amónio e determinação por Espectroscopia de Absorção Atómica (EAA) (Simard, 1993).

3.4. Avaliação dos fragmentos do *mulch* biodegradável 8 meses após a incorporação no solo

Nos dias 1, 2 e 3 de agosto de 2017, 8 meses (240 dias) após a incorporação no solo (6 de dezembro de 2016), todos os fragmentos do FCS biodegradável visíveis a olho nu foram cuidadosamente retirados do solo com a ajuda de uma pequena pá (Figuras 3.8 e 3.9). Foram recolhidos 405 fragmentos do FCS biodegradável. Estes foram limpos gentilmente em água destilada, secos até peso constante e pesados. Em seguida os fragmentos foram colocados numa folha de papel branco e fotografados (Figura 3.10).



Figura 3.8. Material utilizado para recuperar os fragmentos do FCS biodegradável da parcela experimental. Fonte: Aguiar (2017)



Figura 3.9. Pormenor de um fragmento do FCS biodegradável. Fonte: Aguiar (2017)



Figura 3.10. Exemplo de resíduos de FCS biodegradável recuperado de um dos camalhões, colocado a secar em cima de duas folhas de papel branco de tamanho A3. Fonte: Aguiar (2017)

As imagens foram analisadas com o *software* ImageJ (National Institute of Health, 2012). ImageJ é um programa de processamento e análise de imagens do domínio Java, público e desenvolvido no National Institute of Health, USA. A escala para cada imagem foi estabelecida individualmente da seguinte forma:

- Numa folha A4, onde foram colocados os fragmentos para serem fotografados, foi traçada a régua uma linha de 1 cm;
- No programa ImageJ usou-se a ferramenta “Straight” para desenhar uma linha por cima da linha traçada à mão;
- Na opção “Analyze”, selecionou-se “Set Scale”. A linha traçada anteriormente corresponde a distância em pixels à distância pretendida, neste caso 1 cm.

Foi necessário repetir este processo para cada fotografia pois estas não foram tiradas à mesma altura em relação ao fragmento, daí a necessidade de ser desenhada a escala na folha onde foram fotografados. Além disso, o programa só permite abrir uma imagem de cada vez, pelo que a escala tem de ser introduzida novamente sempre que se abre uma nova imagem. Todo o procedimento pode ser consultado no Anexo C.

Assim, obteve-se para cada um dos fragmentos retirados do solo a área (cm²) (Anexo D). A perda de área do FCS biodegradável foi quantificada em percentagem do valor inicial, obtido a 31 de maio de 2016 (Paulino, 2017) (Figura 3.11).

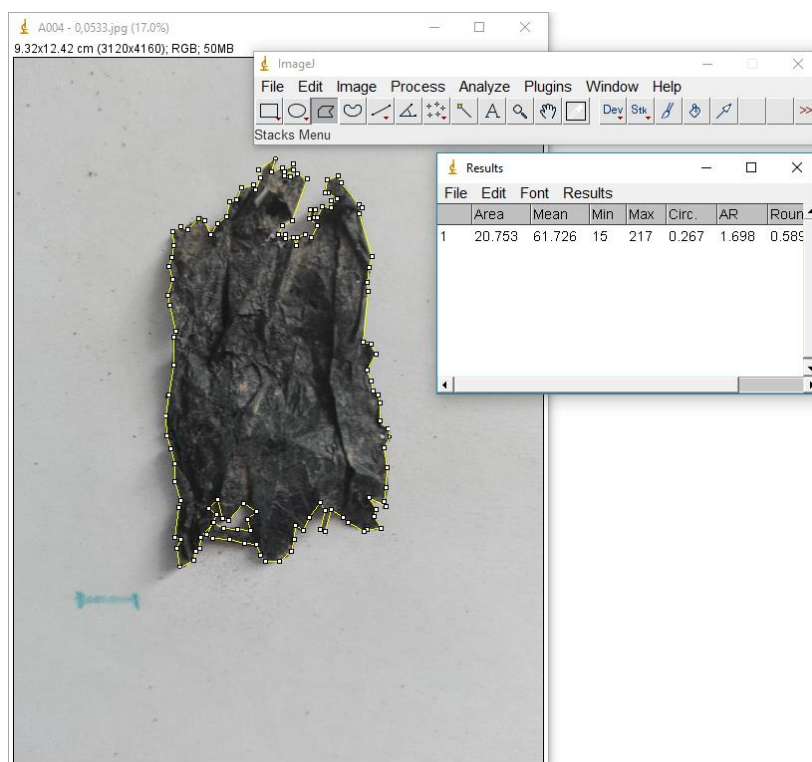


Figura 3.11. Exemplo de uma das medições de área efetuadas com a ajuda do *software* ImageJ. O processo foi repetido para cada um dos fragmentos. Fonte: Aguiar (2017)

3.5. Tratamento estatístico

Foi realizada a análise descritiva dos dados recolhidos relativamente à área de cada fragmento. Posteriormente, separaram-se os fragmentos de FCS biodegradável recolhidos por 5 classes relativas à respetiva área e que a seguir se apresentam:

- Classe I – fragmentos de área inferior a 1 cm²;
- Classe II – fragmentos de área compreendida entre 1 e 10 cm²;
- Classe III – fragmentos de área compreendida entre 10 e 50 cm²;
- Classe IV – fragmentos de área compreendida entre 50 e 100 cm²;
- Classe V – fragmentos de área superior a 100 cm².

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Degradação do filme de cobertura de solo

A taxa de degradação de um FCS é frequentemente medida através da perda de peso. Porém a medição da biodegradação desta forma requer uma limpeza cuidadosa para garantir que nenhum material é perdido ou adicionado ao fragmento que vai ser pesado. De facto, mesmo que seja realizada uma limpeza exaustiva, há sempre o risco de grande parte do que é pesado ser solo agregado impossível de remover. Moreno *et al.* (2017) concluíram que a melhor forma de se avaliar a biodegradação de um FCS é através da avaliação da perda de área do filme, não sendo a perda de peso um indicador robusto para este processo.

Seguindo um método semelhante ao usado por Briassoulis (2007), os fragmentos de filme recolhidos foram fotografados e as imagens obtidas foram processadas num *software* de imagem, ImageJ, de modo a avaliar a área respetiva, os quais foram divididos por 5 classes, tal como referido em 3.5. Os resultados foram expressos em percentagem da área total do material remanescente.

A partir dos 405 fragmentos de FCS biodegradável recolhidos do solo e medidos, construiu-se um gráfico (Figura 4.1) que representa a quantidade de fragmentos possíveis de observar em cada uma das classes definidas. A informação relativa à análise descritiva da área remanescente do FCS biodegradável e o total inicial da área do mesmo encontram-se no quadro 4.1. O menor fragmento media 0,440 cm² e o maior 388,097 cm². A área média dos fragmentos correspondia a 28,074 cm².

Ao fim de 240 dias de degradação do FCS biodegradável no solo, observou-se que 83,5% dos fragmentos apresentava uma área compreendida entre 1 e 50 cm², situando-se nas classes II e III da classificação proposta.

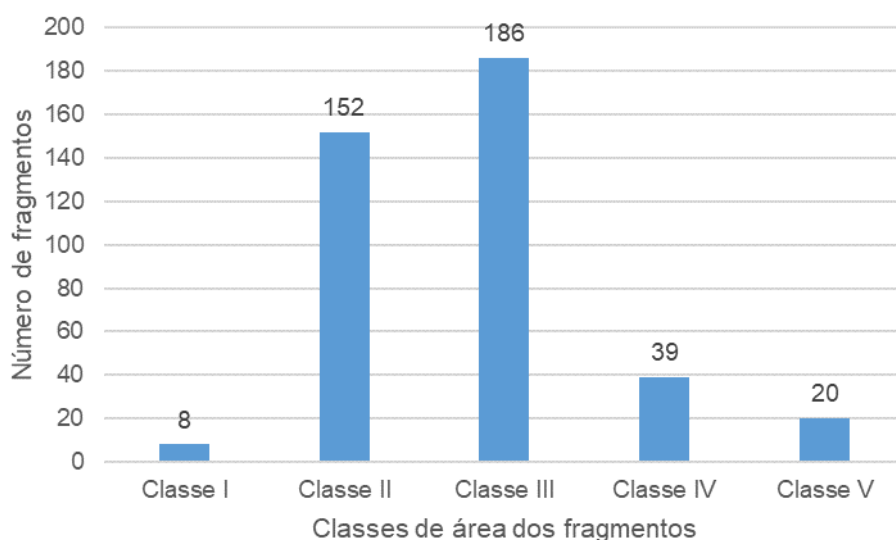


Figura 4.1. Número de fragmentos de FCS biodegradável em cada classe relativa à respetiva área, 240 dias após a incorporação no solo

Quadro 4.1. Análise descritiva da área remanescente do FCS biodegradável e o total inicial do mesmo

| | Área do fragmento (cm ²) |
|---------------|--------------------------------------|
| Total inicial | 17,50 x 10 ⁴ |
| Total final | 1,14 x 10 ⁴ |
| Mínimo | 0,44 |
| Média | 28,07 |
| Máximo | 388,10 |
| Desvio padrão | 41,37 |

4.1.1. Perda de área

Ao fim de 240 dias após a incorporação no solo, a área total remanescente do FCS biodegradável à base de MB era de 11369,761 cm² (Quadro 4.1), correspondendo a uma biodegradação de 93,5% da área superficial (Figura 4.2). Briassoulis (2007), que avaliou 3 FCS biodegradáveis de espessuras diferentes, 12, 15 e 20 µm, em dois anos consecutivos, ao fim de 4 a 6 meses incorporados no solo, obteve resultados de 0% de área remanescente. Costa *et al.* (2014), que avaliaram 2 filmes pretos de Agrobiofilm® com espessura de 18 µm, obtiveram valores da ordem dos 2,37% (para o Agrobiofilm® 1) e 1,53% (para o Agrobiofilm® 2) ao fim de 5 meses de ensaio. Moreno *et al.* (2017), num caso de estudo do MB, obtiveram, ao fim de 200 dias após a incorporação deste filme de cobertura no solo, valores da ordem dos 30% de área remanescente dos fragmentos, com uma área mínima de 0,430 mm² e uma área máxima de 2664 mm².

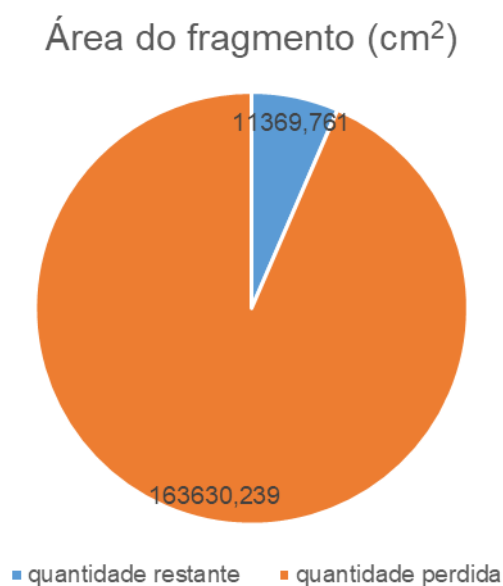


Figura 4.2. Perda de área superficial do FCS biodegradável à base de MB (Agrobiofilm®), 240 dias após a incorporação no solo. Os resultados são expressos em função da área inicial (175000 cm²)

Apesar dos valores de biodegradação obtidos pelos autores referidos serem muito próximos na nossa avaliação, há que ter em consideração todos os fatores que afetam a biodegradação do FCS, tanto a nível biótico, como a nível abiótico, mas, sobretudo, em termos das condições que podem ser controladas pelo utilizador do FCS.

Este estudo foi conduzido num solo de textura franca, ao passo que o de Calmon *et al.* (1999) foi realizado em solos de textura limosa, o de Costa *et al.* (2014) num solo de textura argilosa-arenosa e o de Moreno *et al.* (2017) num solo de textura arenosa-argilosa. A textura do solo afeta a retenção de água e níveis de oxigénio no solo, sendo de esperar que em solos de textura mais fina haja uma maior retenção de água e níveis de oxigénio mais baixos que naqueles de textura mais grosseira. Em condições de ausência de oxigénio ou de baixos teores de humidade, o ataque dos microrganismos é fortemente afetado. O oxigénio em formas atmosféricas ataca as ligações covalentes do polímero.

O clima em que este ensaio foi realizado é de tipo mediterrânico (anteriormente descrito). Calmon *et al.* (1999) realizaram o ensaio em condições climáticas diferentes – clima oceânico em Rennes, mediterrânico em Montpellier e continental em Clermont e Toulouse. Scarascia-Mugnozza *et al.* (2006) conduziram o ensaio experimental no sul de Itália, de clima mediterrânico. O estudo de Briassoulis (2007) foi conduzido em 4 regiões diferentes na Europa – Itália, Grécia (de clima mediterrânico), França e Alemanha (de clima continental). Liu *et al.* (2010) realizaram o ensaio numa estufa, onde as condições climáticas são

controladas. Costa *et al.* (2014) avaliaram a degradabilidade do FCS numa região de clima mediterrânico e Moreno *et al.* (2017) realizaram o ensaio numa região de clima continental mediterrânico. As regiões de clima mediterrânico estão mais sujeitas a temperaturas elevadas no verão e a chuvas de alguma intensidade no inverno, ao contrário do que acontece em regiões de clima continental, por exemplo, onde as temperaturas ao longo do ano são mais baixas que as registadas no primeiro tipo de clima. Esta alternância entre chuvas e temperaturas altas afeta favoravelmente a degradação abiótica do FCS, enfraquecendo e, consequentemente, fragmentando mais rapidamente o material.

Quanto ao teor de MO no solo, os valores registados por Costa *et al.* (2014) e Moreno *et al.* (2017) foram muito baixos, 1% e 1,6%, respetivamente, mas ainda assim superiores aos registados neste trabalho, 0,89%. Os teores de MO também refletem o nível de atividade microbiana que ocorre no solo, sendo que quanto maior for este, maior a atividade microbiana e, assim, maior será a deterioração, fragmentação e assimilação efetuada por estes.

Relativamente ao tipo de cultura, houve algumas semelhanças, nomeadamente na escolha de culturas de ciclo curto – sem cultura no caso de Calmon *et al.* (1999) e Liu *et al.* (2010) –, morango (Scarascia-Mugnozza *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2014), melancia (*Citrullus lanatus* L.) (Briassoulis, 2007), pimento (Moreno *et al.*, 2017) e pimento picante neste ensaio. No caso da cultura do morango, a maioria das raízes localizam-se nos 25 cm superficiais do solo (Almeida, 2006). Relativamente ao pimento e ao pimento picante, estas encontram-se na sua maioria entre os 30 e os 60 cm de profundidade (Almeida, 2006; Paulino, 2017). A profundidade a que o FCS é incorporado importa na medida em que quanto mais perto da superfície, mais sujeito está à ação do vento, radiação solar e precipitação, e quanto mais enterrado em profundidade estiver, menor será a degradação do material por fatores abióticos. Neste caso de estudo, o FCS foi enterrado a 15 cm de profundidade, a altura do camalhão. Apenas no ensaio de Moreno *et al.* (2017) o FCS foi incorporado à mesma profundidade. No estudo realizado por Calmon *et al.* (1999), o FCS foi enterrado a 30 cm de profundidade, mas a um ângulo de 45° para evitar a ocorrência de água estagnada e o de Costa *et al.* (2014) seguiu um método semelhante, tendo sido o FCS enterrado a 20 cm de profundidade a um ângulo de 20°. Liu *et al.* (2010) incorporaram o FCS no solo a 22 cm de profundidade.

As condições de humidade elevada, precipitação da ordem dos 470 L/m² e 1155 MJ/m² de radiação solar total observadas no estudo de Scarascia-Mugnozza *et al.* (2006), pH ligeiramente ácido (5,5-6,5) no solo do ensaio de Costa *et al.* (2014), pH do solo da região onde foi feito o ensaio ligeiramente básico (8,2), cultura irrigada numa região não ventosa e com alta exposição solar no verão no ensaio de Moreno *et al.* (2017), diferem um pouco das

condições registadas no local onde foi realizado este ensaio com pH 7,8 e 172,826 MJ/m² de radiação solar total. Como referido no tópico 2.2.1, o pH é um dos fatores abióticos que mais afeta a biodegradação do FCS, assim como a atividade da água, favorecendo a degradação do FCS pela hidrólise. Por outro lado, quanto maior o tempo de exposição do material à luz solar – maior quantidade de radiação solar total captada pelo FCS –, mais rapidamente se iniciará o processo de biodegradação do filme de cobertura, sendo a degradação pela luz o tipo de degradação abiótica mais eficiente.

Quanto às características físicas do FCS, verificaram-se diferenças significativas entre os estudos realizados. O FCS utilizado neste ensaio apresentava uma espessura de 12 µm, tal como os avaliados por Briassoulis (2007) na Grécia e na Alemanha. Noutros ensaios, os FCS tinham espessuras diferentes: 35 e 116 µm (Calmon *et al.*, 1999); 25, 35 e 45 µm (Scarascia-Mugnozza *et al.*, 2006); 15 µm (Briassoulis, 2007); 10 e 15 µm (Liu *et al.*, 2010); 18 µm (Costa *et al.*, 2014) e 15 µm (Moreno *et al.*, 2017). Calmon *et al.* (1999) concluíram que quanto menor era a espessura do filme, maior era o nível de degradação – o filme era degradado primeiro em espessura. Assim, os FCS de maior espessura degradam-se mais lentamente.

Para além de todos os aspetos já considerados, há que ter em consideração o período de tempo em que o FCS esteve incorporado no solo, assim como se esteve anteriormente à superfície deste, exposto às condições climáticas. No caso de estudo, o FCS esteve 7 meses à superfície do solo e 8 meses incorporado. No ensaio de Scarascia-Mugnozza *et al.* (2006), o FCS esteve 9 meses à superfície e 12 meses incorporado. No de Moreno *et al.* (2017) o FCS esteve 6 meses à superfície e foi recolhido em períodos diferentes: ao fim de 0, 70, 160 e 200 dias. Calmon *et al.* (1999) também recolheram fragmentos do FCS em diferentes períodos após a incorporação no solo: ao fim de 4, 6, 10, 14, 18 e 24 meses. Liu *et al.* (2010) seguiu o mesmo processo, recolhendo os fragmentos ao fim de 30, 60, 75 e 90 dias após a incorporação. No caso de estudo de Costa *et al.* (2014), o FCS foi enterrado no solo durante um período de 5 meses. Os FCS, na sua utilização normal e adequada, estão primeiramente à superfície do solo, expostos às condições climáticas da região em que estão a ser utilizados e, posteriormente, são incorporados no solo juntamente com os resíduos da cultura. Quanto maior for o período de exposição, maior será a degradação do FCS pelas condições abióticas (degradação mecânica, pela luz, térmica e química). Adicionalmente, quanto maior for o período de incorporação, maior será a degradação pelas condições bióticas (biodeterioração por via física, química e enzimática; biofragmentação por via da hidrólise enzimática, oxidação enzimática e oxidação radical; assimilação e mineralização).

O FCS ideal, totalmente biodegradável no mais curto período de tempo, seria, então, um que tivesse espessura fina e grande teor de partículas de amido na sua composição, para favorecer a biodegradação pelos microrganismos do solo. Colocado num solo de textura média, com elevados teores de humidade do solo e em condições aeróbicas. Deixado à superfície do solo durante o ciclo da cultura escolhida para o efeito e incorporado posteriormente com os resíduos da cultura a uma profundidade considerável, entre os 15 e os 30 cm, em solos com teor médio de MO e pH favorável à cultura em questão e numa zona com alta exposição solar e alternância de períodos de chuva com períodos de temperaturas elevadas. Para além disso, é necessário haver um equilíbrio entre as propriedades mecânicas do filme e a sua degradabilidade.

5. CONCLUSÕES

O uso de filmes de cobertura de solo (FCS) permitiu aos agricultores aumentar a produtividade das culturas, reduzindo a dependência da produtividade destas das condições climáticas. A utilização de filmes plásticos sofreu uma expansão ao longo do tempo. No entanto, o seu uso frequente pode influenciar negativamente as características globais do ecossistema. Uma das principais preocupações advindas da utilização destes materiais é o impacto ambiental que está associado à gestão dos resíduos gerados. Os polímeros plásticos convencionais, na sua maioria fabricados a partir de polietileno (PE), não se degradam de forma biológica. Assim, na maior parte dos casos, o *mulch* de cobertura do solo é abandonado no terreno ou queimado ao ar livre, com a consequente emissão de substâncias tóxicas e com prejuízo para a saúde pública e ambiental. No entanto, em Portugal essa não é a realidade actualmente.

No sentido de minimizar o impacto do uso destes *mulches* no ambiente, a maioria dos biopolímeros termoplásticos que são actualmente utilizados são produzidos à base de amido, um polímero natural e totalmente biodegradável. Um desses biopolímeros é o Mater-Bi® (MB), maioritariamente composto por amido de milho e outros polímeros naturais. Completamente biodegradável e compostável, é um dos materiais mais utilizados actualmente na produção de *mulches*.

Numa parcela situada junto do Chalé de Agricultura do Instituto Superior de Agronomia, distrito de Lisboa, foi aplicada, a 31 de maio de 2016, uma faixa de FCS biodegradável, com 1,75 m de largura e 2,50 m de comprimento, perfazendo um total de 17,50 m² de Agrobiofilm®, com formulação de MB, cor preta e espessura de 12 µm. O objetivo era avaliar o desempenho do FCS biodegradável num ciclo cultural de pimento picante (*Capsicum annuum* var. Santaka). No dia 6 de dezembro de 2016, o FCS remanescente foi incorporado no solo juntamente com os resíduos da cultura, numa profundidade até cerca de 15 cm.

Ao fim de 240 dias após a incorporação no solo, todos os fragmentos do filme biodegradável visíveis a olho nu foram cuidadosamente retirados do solo, limpos gentilmente em água destilada e secos. Em seguida os fragmentos foram colocados numa folha de papel branco e fotografados. As imagens foram analisadas com o *software* ImageJ. A perda de área do FCS foi quantificada em percentagem dos valores iniciais.

Foram recolhidos 405 fragmentos do FCS do solo. A análise descritiva dos dados relativos à área de cada fragmento mostrou que o menor media 0,44 cm² e o maior 388,10 cm², sendo o valor médio de 28,07 cm². Posteriormente, separaram-se os fragmentos de plástico recolhidos

por 5 classes relativas à área medida. Observou-se que 83,5% dos fragmentos encontrados apresentavam uma área compreendida entre 1 e 50 cm². A área superficial remanescente do FCS biodegradável à base MB era de 1,14 m² correspondendo a uma biodegradação de 93,5% da área inicial.

Os FCS biodegradáveis à base de MB podem, assim, ser considerados como uma alternativa de sucesso à utilização de filmes de PE convencional, com vista a eliminar problemas a nível ambiental associados à produção e gestão destes *mulches*. A melhor forma de estimar a taxa de biodegradabilidade destes é através da avaliação da perda de área do FCS, um método mais robusto e eficaz para efeitos comparativos, do que a avaliação de perda de peso, que está sempre sujeita a incertezas uma vez que ocorre sempre a agregação de materiais exteriores ao polímero.

No futuro, deverão ser conduzidos outros estudos com filmes de cobertura de solo biodegradáveis, relativamente a vários aspetos que poderão influenciar de forma significativa a taxa de biodegradação no solo, nomeadamente o tipo de solo e a quantidade de matéria orgânica nele presente, a espessura do filme, a profundidade e a época de incorporação no solo, o tipo de cultura e a duração do ciclo cultural desta, gamas de valores de acordo com o tipo de filme e as condições do ensaio, entre outros. Seria também de interesse comercial e ambiental conduzir um estudo durante 2 anos com dois FCS de cor diferente colocados em dois ciclos culturais diferentes, enterrando-se cada um ao fim do ciclo da cultura e verificar o que a biodegradação sofrida pelo primeiro FCS após o fim do ciclo da segunda cultura.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd El-Rehim, H.A., Hegazy, E.-S.A., Ali, A.M., Rabie, A.M., 2004. *Synergistic effect of combining UV-sunlight-soil burial treatment on the biodegradation rate of LDPE/starch blends*. Journal of Photochemistry and Photobiology A **163**, 547–556.
- Accinelli, C., Abbas, H.K., 2011. *New perspectives for the application of bioplastic materials in the biocontrol of Aspergillus flavus in corn*. Toxin Reviews **30**, 71–78.
- Accinelli, C., Saccà, M.L., Mencarelli, M., Vicari, A., 2012. *Deterioration of bioplastic carrier bags in the environment and assessment of a new recycling alternative*. Chemosphere **89**, 136–143.
- Agrobiofilm, 2013. Agrobiofilm in <http://www.agrobiofilm.eu/pt/bioplásticos/33> (acedido em novembro de 2017).
- Almeida, D. (2006). *Manual de culturas hortícolas-Volume II*. 1ª Edição. Editorial Presença, Lisboa, pp. 76; 199.
- Andrade, J.A., Abreu, F.G., 2008. *Effects of climatic changes on the establishment of Mediterranean crops*. In <https://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/10174/8058/1/WSCRA08%20-%20J.%20Andrade.pdf> (acedido em novembro de 2017).
- Ashori, A., 2008. *Wood-lastic composites as promising green composites for automotive industries*. Bioresource Technology **99**, 4661–4667.
- Averous, L., Le Digabel, F., 2006. *Properties of biocomposites based on lignocellulosic fillers*. Carbohydrate Polymers **66**, 480–493.
- Barker, M., Safford, R., 2009. *Industrial uses for crops: Bioplastics* in http://www.appg-agscience.org.uk/linkedfiles/HGCABioplastics_web28409.pdf (acedido em novembro de 2017).
- Barnes, D.K.A., Galgani, F., Thompson, R.C., Barlaz, M., 2009. *Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments*. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences **364**, 1985–1998.
- Bastioli, C., 1998. *Properties and applications of Mater-Bi starch-based materials*. Polymer Degradation and Stability **59**, 263–272.
- Bastioli, C., 2001. *Global status of the production of biobased packaging materials*. Starch/Stärke **53**, 351–355.
- Bonhomme, S., Cuer, A., Delort, A.-M., Lemaire, J., Sancelme, M., Scott, G., 2003. *Environmental biodegradation of polyethylene*. Polymer Degradation and Stability **81**, 441–452.
- Briassoulis, D., 2004. *Mechanical design requirements for low tunnel biodegradable and conventional films*. Biosystems Engineering **87** (2), 209–223.
- Briassoulis, D., 2005. *The effects of tensile stress and the agrochemicals Vapam on the ageing of low density polyethylene (LDPE) agricultural films. Part I. Mechanical behaviour*. Polymer Degradation and Stability **86**, 489–503.

- Briassoulis, D., 2006. *Mechanical behaviour of biodegradable agricultural films under real field conditions*. Polymer Degradation and Stability **91**, 1256–1272.
- Briassoulis, D., 2007. *Analysis of the mechanical and degradation performances of optimised agricultural biodegradable films*. Polymer Degradation and Stability **92**, 1115–1132.
- Briassoulis, D., Hiskakis, M., Scarascia, G., Picuno, P., Delgado, C., Dejean, C., 2010. *Labeling scheme for agricultural plastic wastes in Europe*. Quality Assurance and Safety of Crops & Foods, **2** (2), 93–104.
- Briassoulis, D., Hiskakis, M., Babou, E., Antiohos, S., Papadi, C., 2012. *Experimental investigation of the quality characteristics of agricultural plastic wastes regarding their recycling and energy recovery potential*. Waste Management **32** (6), 1075–90.
- Briassoulis, D., Babou, E., Hiskakis, M., Kyrikou, I., 2015. *Analysis of long-term degradation behaviour of polyethylene mulching films with pro-oxidants under real cultivation and soil burial conditions*. Environmental Science and Pollution Research **22**, 2584–2598.
- Calmon, A., Guillaume, S., Bellon-Maurel, V., Feuilleley, P., Silvestre, F., 1999. *Evaluation of material biodegradability in real conditions-development of a burial test and an analysis methodology based on numerical vision*. Journal of Environmental Polymer Degradation **7** (3), 157-166.
- Capitelli, F., Principi, P., Sorlini, C., 2006. *Biodeterioration of modern materials in contemporary collections: can biotechnology help?* Trends in Biotechnology **24** (8), 350–354.
- Cardoso, J. C., Bessa, M. T., Marado, M. B., 1971. *Carta dos solos de Portugal, 1: 1000000. Secretaria de Estado da Agricultura-Serviço de Reconhecimento e de Ordenamento Agrário* in http://esdac.jrc.ec.europa.eu/images/Eudasm/PT/port_x22.jpg (acedido em novembro de 2017).
- Chandra, R., Rustgi, R., 1998. *Biodegradable polymers*. Progress in Polymer Science **23**, 1273– 1335.
- Clarke, S.P., 1996. *Engineer, Energy e Crop Systems/OMAFRA Recycling Farm Plastic Films ISSN 1198-712x* in <http://www.omafra.gov.on.ca/english/engineer/facts/95-019.htm> (acedido em novembro de 2017).
- Costa, R., 2012. *Estudo da biodegradabilidade de bioplástico numa cultura de ciclo longo – morango*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia do Ambiente. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal.
- Costa, R., Saraiva, A., Carvalho, L., Duarte, E., 2014. *The use of biodegradable mulch films on strawberry crop in Portugal*. Scientia Horticulturae **173**, 65–70.
- Coutinho, N., 2016. *Monda de infestantes em Agricultura biológica. Avaliação de diferentes técnicas em alface (Lactuca sativa) e cebola (Allium cepa)*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Agronómica. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal.
- Crispim, C.A., Gaylarde, C.C., 2005. *Cyanobacteria and biodeterioration of cultural heritage: a review*. Microbial Ecology **49**, 1–9.
- DIN EN 13432:2000-12, 2000. *Packaging — Requirements for packaging recoverable through composting and biodegradation — Test scheme and evaluation criteria for the final*

- acceptance of packaging; German Version EN 13432:2000*. European Committee for Standardization, Brussels.
- Directiva 1999/31/CE do conselho de 26 de abril de 1999 relativa à disposição de resíduos em aterros. In: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:31999L0031&from=PT>, (acedido a janeiro de 2018).
- Directiva 2000/76/CE do Parlamento Europeu e do conselho de 4 de dezembro de 2000 relativa à incineração de resíduos. In: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32000L0076&qid=1515429804763&from=EN> (acedido a janeiro de 2018).
- Directiva 2008/98/CE do Parlamento Europeu e do conselho de 19 de novembro de 2008 relativa aos resíduos e que revoga certas directivas. In: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008L0098&qid=1515429490711&from=EN> (acedido a janeiro de 2018).
- Domagała-Świątkiewicz, I., Siwek, P., 2013. *The effect of direct covering with biodegradable nonwoven film on the physical and chemical properties of soil*. Polish Journal of Environmental Studies **22**, 667–674.
- Doran, J.W., Parkin, T.B., 1994. *Defining and assessing soil quality*. In: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F., Stewart, B.A. (Eds.), *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy (SSSA Special Publication).
- Duis, K., Coors, A., 2016. *Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects*. Environmental Sciences Europe **28**, 1–25.
- Duval, C., 2004. *Matériaux dégradables In Matières plastiques et environnement–Recyclage, valorisation, biodégradabilité, écoconception*. DUNOD, Paris.
- Eggins, H.O.W., Oxley, T.A., 2001. *Biodeterioration and biodegradation*. International Biodeterioration & Biodegradation **48**, 12–15.
- Emadien, S.M., Onay, T.T., Demirel, B., 2017. *Biodegradation of bioplastics in natural environments*. Waste Management **59**, 526–536.
- European Bioplastic, nova-Institute, 2017. In: <http://www.european-bioplastics.org/bioplastics/materials/> (acedido a janeiro de 2018).
- Ferreira, A.M.P.J., 2000. *Caraterização de Portugal Continental*, 58 pp. In <http://www.lneg.pt/download/3259/cap2.pdf> (acedido em novembro de 2017).
- Filippi, F., Magnani, G., Guerrini, S., e Ranghino, F., 2011. *Agronomic evaluation of green biodegradable mulch on melon crop*. Italian Journal of Agronomy **6**, 111–116.
- González, A., Fernández, J.A., Martín, P., Rodríguez, R., López, J., Bañón, S., Franco, J.A., 2003. *Behaviour of biodegradable film for mulching in open-air melon cultivation in south-east Spain*. Kuratorium fur Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft, KTBL **414**, 71–77.
- Göpferich, A., 1996. *Mechanism of polymer degradation and erosion*. Biomaterials **17**, 103–114.

- Graci, A., Luciano, A., Zaragoza, C. L., e Aibar, J. L., 2008. *Evaluación de alternativas al uso del polietileno como cubierta del suelo para el manejo de malas hierbas y otros aspectos agronómicos en el cultivo del tomate*. Tese de Doutoramento. Universidad de Zaragoza. 39 pp.
- Gross, R.A., Kalra, B., 2002. *Biodegradable polymers for the environment*. Green Chemistry **297**, 803–807.
- Gu, J.-D., 2003. *Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances*. International Biodeterioration & Biodegradation **52**, 69–91.
- Helbling, C., Abanilla, M., Lee, L., Karbhari, V.M., 2006. *Issues of variability and durability under synergistic exposure conditions related to advanced polymer composites in civil infrastructure*. Composites Part A: Applied Science and Manufacturing **37** (8), 1102–1110.
- Hueck, H.J., 2001. *The biodeterioration of materials: an apraisal*. International Biodeterioration & Biodegradation **48**, 5–11.
- Ipekoglu, B., Böke, H., Cizer, O., 2007. *Assessment of material use in relation to climate in historical buildings*. Building and Environment **42**, 970–978.
- ISO 14852:1999. *Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium – method by analysis of evolved carbon dioxide*. International Organization for Standardization.
- Jakubowicz, I., Yarahmadi, N., Petersen, H., 2006. *Evaluation of the rate of abiotic degradation of biodegradable polyethylene in various environments*. Polymer Degradation and Stability **91** (6), 1556–1562.
- Janssen L., Moscicki, L. (eds.), 2009. *Thermoplastic starch: A green material for various industries*, hardcover.
- Kale, G., Kijchavengkul, T., Auras, R., Rubino, M., Selke, S.E., Singh, S.P., 2007. *Compostability of bioplastic packaging materials: an overview*. Macromolecular Bioscience **7**, 255–277.
- Kasirajan, S., Ngouajio, M., 2012. *Polyethylene and biodegradable mulches for agricultural applications: a review*. Agronomy for Sustainable Development, **32** (2) 501–529.
- Koch, V.H., Ropper, H., 1989. *New industrial products from starch*. Starch/Stärke **40**, 121–131.
- Kounty, M., Lemaire, J., Delort, A.-M., 2006. *Biodegradation of polyethylene films with prooxidant additives*. Chemosphere **64**, 1243–1252.
- Krzan, A., Hemjinda, S., Miertus, S., Corti, A., Chiellini, E., 2006. *Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics*. Polymer Degradation and Stability **91**, 2819–2833.
- Kyrikou, I., Briassoulis, D., 2007. *Biodegradation of agricultural plastic: a critical review*. Journal of Polymers and the Environment **15**, 125–150.
- Lamont, W.J.Jr., 1993. *Plastic mulches for the production o vegetable crops*. HortTechnology **3**, 3–7.
- Liu, M., Huang, Z., Yang, Y., 2010. *Analysis of biodegradability of three biodegradable mulching films*. Journal of Polymers and the Environment **18**, 148-154.

- Lörcks, J., 1998. *Properties and applications of compostable starch-based plastic material*. Polymer Degradation and Stability **59** (1–3), 245–249.
- Lucas, N., Bienaime, C., Belloy, C., Queneudec, M., Silvestre, F., Nauva-Saucedo, J.E., 2008. *Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques*. Chemosphere **73**, 429–442.
- Lugauskas, A., Levinskaite, L., Peculyte, D., 2003. *Micromycetes as deterioration agents of polymeric materials*. International Biodeterioration & Biodegradation **52**, 233–242.
- Massardier-Nageotte, V., Pestre, C., Cruard-Pradet, T., Bayard, R., 2006. *Aerobic and anaerobic biodegradability of polymer films and physico-chemical characterization*. Polymer Degradation and Stability **91** (3), 620–627.
- McCraw, D., Motes, J.E., 2007. *Division of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State University – Use of plastic mulch and row covers in vegetable production*. Oklahoma Cooperative Extension Fact Sheets, 1 in <http://pods.dasnr.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-1099/F-6034%20web.pdf> (acedido em novembro de 2017).
- McKenzie, C., Duncan, L.W., 2001. *Landscape fabric as a physical barrier to neonate Diaprepes abbreviatus (Coleoptera: Curculionidae)*. Florida Entomologist **84**, 721–722.
- Mekonnen, T., Mussone, P., Khalil, H., Bressler, D., 2013. *Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications*. Journal of Materials Chemistry A **1**, 13379–13398.
- Mohee, R., Unmar, G.D., Mudhoo, A., Khadoo, P., 2008. *Biodegradability of biodegradable/degradable plastic materials under aerobic and anaerobic conditions*. Waste Management **28**, 162–1629.
- Moreno, M.M., Moreno, A., 2008. *Effect of diferente biodegradable and polyethylene mulches on soil properties and production in a tomato crop*. Scientia Horticulturae **116**, 256–263.
- Moreno, M.M., González-Mora, S., Villena, J., Campos, J.A., Moreno, C., 2017. *Deterioration pattern of six biodegradable, potentially low-environmental impact mulches in field conditions*. Journal of Environmental Management **200**, 490–501.
- Mougin, G., 2006. *Natural-fibre composites: problems and solutions*. JEC composites **43**, 32–35.
- Muller, R.J., Witt, U., Rantze, E., Deckwer, W.D., 1998. *Architecture of biodegradable copolyesters containing aromatic constituents*. Polymer Degradation and Stability **59**, 203–208.
- National Institute of Health, 2012. *ImageJ*. National Institute of Health in <https://rsb.info.nih.gov/ij/index.html> (acedido em agosto de 2017).
- Nayak, P.L., 1999. *Biodegradable polymers: Opportunities and challenges*. Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews **39**, 481–505.
- NF U52-001, 2005. *Matériaux biodégradables pour l'agriculture et l'horticulture - Produits de paillage - Exigences et méthodes d'essai*. Association Française de Normalisation.
- Novamont, 2013. *Mater-Bi ® mulching film the solution for biodegradability in the soil* in http://www.patilux.com/wp-content/uploads/2015/01/Mater-Bi_EN_v1-2.pdf (acedido em novembro 2017).

- Ohtake, Y., Kobayashi, T., Asabe, H., Murakami, N., 1998. *Studies on biodegradation of LDPE — observation of LDPE films scattered in agricultural fields or in garden soil*. Polymer Degradation and Stability **60**, 79–84.
- Oliveira, N.F.S. (2013). *Laboratório de paisagem: metodologia aplicada ao ensino da Arquitetura Paisagista. Caso de estudo: Terra da Mata de Baixo, Tapada da Ajuda, Lisboa, Portugal*. Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Arquitetura Paisagista. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal. 35-40.
- Pathak, S., Sneha, C.L.R., Mathew, B.B., 2014. *Bioplastics: its timeline based scenario e challenges*. Journal of Polymer and Biopolymer Physics Chemistry **2**, 84–90.
- Paulino, H.F., 2017. *Avaliação do desempenho de um filme de cobertura de solo biodegradável num ciclo cultural de pimento picante (Capsicum annuum var. Santaka)*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia do Ambiente. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal, 40-43.
- Pelmont, J., 2005. *Biodégradations et métabolismes. Les bactéries pour les technologies de l'environnement*. EDP Sciences, Les Ulis.
- Pepic, D., Zagar, E., Zigon, M., Krzan, A., Kunaver, M., Djonlagic, J., 2008. *Synthesis and characterization of biodegradable aliphatic copolyesters with poly(ethylene oxide) soft segments*. European Polymer Journal **44**, 904–917.
- Picuno, P., Tortora, A., Capobianco, R.L., 2011. *Analysis of plasticulture landscapes in Southern Italy through remote sensing and solid modelling techniques*. Landscape and Urban Planning **100** (1–2), 45–56.
- Ramos, L., Berenstein, G., Hughes, E.A., Zalts, A., Montserrat, J.M., 2015. *Polyethylene film incorporation into the horticultural soil of small periurban production units in Argentina*. Science of the Total Environment **523**, 74–81.
- Rasmussen, J., Jensen, P.H., Holm, P.E., Jacobsen, O.S., 2004. *Method for rapid screening of pesticide mineralization in soil*. Journal of Microbiological Methods **57**, 151–156.
- Regnault, J.-P., 1990. *Microbiologie générale*. Décarie Editeur Inc., Montreal.
- Rillig, M.C., 2012. *Microplastic in terrestrial ecosystems and the soil?* Environmental Science & Technology **46**, 6453–6454.
- Saponaro, S., Sezenna, E., Degli Innocenti, F., Mezzanotte, V., Bonomo, L., 2008. *A screening model for fate and transport of biodegradable polyesters in soil*. Journal of Environmental Management **88**, 1078–1087.
- Scarascia-Mugnozza, G., Schettini, E., Vox, G., Malinconico, M., Immirzi, B., Pagliara, S., 2006. *Mechanical properties decay and morphological behaviour of biodegradable films for agricultural mulching in real scale experiment*. Polymer Degradation and Stability **91**, 2801.
- Scarascia-Mugnozza, G., Sica, C., Russo, G., 2011. *Plastic materials in european agriculture: actual use and perspectives*. Journal of Agricultural Engineering **3**, 15–28.
- Sivan, A., 2011. *New perspectives in plastic biodegradation*. Current Opinion in Biotechnology **22**, 422–426.
- Steinmetz, Z., Wollmann, C., Schaefer, M., Buchmann, C., David, J., Tröger, J., Muñoz, K., Frör, O., Schaumann, G.E., 2016. *Plastic mulching in agriculture. Trading short-term*

- agronomic benefits for long-term soil degradation?* Science of the Total Environment **550**, 690–705.
- Sudin, R., Swamy, N., 2006. *Bamboo and wood fibres cement composites for sustainable infrastructure regeneration?* Journal of Materials Science **41** (21), 6917–6924.
- Tarara, J.M., 2000. *Microclimate modification with plastic mulch.* HortScience **35**, 169–180.
- Teuten, E.L., Saquing, J.M., Knappe, D.R.U., Barlaz, M.A., Jonsson, S., Björn, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., Galloway, T.S., Yamashita, R., Ochi, D., Watanuki, Y., Moore, C., Viet, P.H., Tana, T.S., Prudente, M., Boonyatumanond, R., Zakaria, M.P., Akkhavong, K., Ogata, Y., Hirai, H., Iwasa, S., Mizukawa, K., Hagino, Y., Imamura, A., Saha, M., Takada, H., 2009. *Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife.* Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences **364**, 2027–2045.
- Tokiwa, Y., Calabia, B.P., Ugwu, C.U., Aiba, S., 2009. *Biodegradability of plastics.* International Journal of Molecular Sciences **10**, 3722–3742.
- Touchaleauma, F., Martin-Closas, L., Angellier-Coussy, H., Chevillard, A., Cesar, G., Gontard, N., Gastaldi, E., 2016. *Performance and environmental impact of biodegradable polymers as agricultural mulching films.* Chemosphere **144**, 433–439.
- Tsuji, H., Ikada, Y., 2000. *Properties and morphology of poly(L-lactide) 4. Effects of structural parameters on long-term hydrolysis of poly(L-lactide) in phosphatebuffered solution.* Polymer Degradation and Stability **67** (1), 179–189.
- VINÇOTTE – CERTEST PRODUCTS, 2016. *Certificate for awarding and use of the “OK biodegradable soil” conformity mark.* No. O 16-1961-A. 1 p.
- Walsh, J.H., 2001. *Ecological considerations of biodeterioration.* International Biodeterioration & Biodegradation **48**, 16–25.
- Warscheid, T., Braams, J., 2000. *Biodeterioration of stone: a review.* International Biodeterioration & Biodegradation **46**, 343–368.
- Wiles, D.M., Scott, G., 2006. *Polyolefins with controlled environmental degradability.* Polymer Degradation and Stability **91**, 1581–1592.
- Wuambua, P., Ivens, J., Verpoest, I., 2003. *Natural fibres: can they replace glass fibre reinforced plastics?* Composites Science and Technology **63** (9), 1259–1264.
- Yi, H., Zhiyong, Q., Hailian, Z., Xiaobo, L., 2004. *Alkaline degradation behavior of polyesteramide fibers: surface erosion.* Colloid and Polymer Science **282** (9), 972–978.
- Zhang, G.S., Hu, X.B., Zhang, X.X., Li, J., 2015. *Effects of plastic mulch and crop rotation on soil physical properties in rain-fed vegetable production in the mid-Yunnan plateau, China.* Soil & Tillage Research **145**, 111–117.

ANEXOS

Anexo A

Dados das normais climatológicas na Tapada da Ajuda no período 1971-2000.

| Normais climatológicas da Tapada da Ajuda, 1971/2000 | | | | | | | | | | | | |
|--|---------------|----------------|---------------|-----------|---------|---------------------|-----------|--------------------------|-------|--------|-------------|------|
| Lat. 38° 42' N | | Long. 9° 10' W | | Alt. 60 m | | T ar a 1,5 m | | Anemómetro a 2 m | | | | |
| | T máx ar (°C) | | T mín ar (°C) | | T média | T mínima relva (°C) | | Temperatura do solo (°C) | | | Insolação | |
| | média | max absol | média | min absol | (°C) | média | min absol | 10 cm | 20 cm | 120 cm | total horas | (%) |
| Janeiro | 14.8 | 20.1 | 7.4 | -1.5 | 11.1 | 3.2 | | 9.6 | 11.7 | 15.1 | 130.0 | 43.0 |
| Fevereiro | 15.8 | 24.5 | 8.2 | -0.5 | 12.0 | 4.8 | | 10.7 | 12.3 | 14.4 | 141.5 | 47.4 |
| Março | 18.1 | 29.0 | 9.0 | 0.5 | 13.5 | 4.7 | | 12.5 | 14.0 | 14.8 | 188.2 | 52.7 |
| Abril | 19.0 | 33.2 | 9.9 | 2.5 | 14.5 | 5.9 | | 14.9 | 16.0 | 15.9 | 213.2 | 54.6 |
| Maio | 21.2 | 35.6 | 11.7 | 5.0 | 16.5 | 7.7 | | 18.0 | 18.7 | 17.3 | 258.9 | 59.3 |
| Junho | 24.9 | 41.0 | 14.3 | 8.0 | 19.5 | 10.2 | | 21.3 | 21.8 | 19.3 | 284.7 | 64.7 |
| Julho | 27.6 | 41.2 | 16.2 | 10.2 | 21.9 | 11.7 | | 23.5 | 24.0 | 21.1 | 315.6 | 70.0 |
| Agosto | 27.9 | 37.6 | 16.3 | 7.5 | 22.1 | 12.3 | | 23.6 | 24.3 | 22.3 | 313.6 | 74.1 |
| Setembro | 26.0 | 37.5 | 15.4 | 9.5 | 20.7 | 11.4 | | 20.7 | 22.4 | 21.3 | 229.2 | 62.3 |
| Outubro | 22.3 | 32.5 | 13.5 | 6.0 | 17.8 | 10.0 | | 17.1 | 19.3 | 21.0 | 183.1 | 53.8 |
| Novembro | 18.3 | 25.7 | 10.8 | 3.4 | 14.6 | 9.8 | | 13.5 | 15.8 | 18.5 | 138.4 | 46.6 |
| Dezembro | 15.6 | 23.1 | 8.8 | 1.0 | 12.2 | 5.4 | | 11.1 | 13.2 | 16.2 | 116.1 | 40.5 |
| Ano | 21.0 | 41.2 | 11.8 | -1.5 | 16.4 | 8.1 | | 16.4 | 17.8 | 18.1 | 2512.4 | 55.8 |

| | HR | Precipitação, (mm) | | Vento | Evapor tina | ETP, P/M | Número de dias | | | | | |
|-----------|-----|--------------------|------------|--------|-------------|------------|----------------|----------|----------|--------|---------|--------|
| | (%) | total | máx diário | (km/h) | total (mm) | total (mm) | TMáx>25° | TMín>20° | R≥0,1 mm | R≥1 mm | R≥10 mm | Geadas |
| Janeiro | 81 | 90.6 | | 5.7 | 49.8 | 35.3 | 0.0 | 0.0 | 11.9 | 9.8 | 3.3 | |
| Fevereiro | 78 | 85.3 | | 6.2 | 54.6 | 50.4 | 0.0 | 0.0 | 11.9 | 9.6 | 2.9 | |
| Março | 72 | 47.3 | | 5.9 | 91.4 | 85.8 | 1.0 | 0.0 | 9.6 | 7.0 | 7.1 | |
| Abril | 70 | 56.4 | | 6.1 | 109.1 | 109.7 | 1.7 | 0.0 | 10.9 | 8.3 | 1.8 | |
| Maio | 70 | 50.6 | | 6.4 | 129.0 | 141.8 | 4.9 | 0.1 | 8.1 | 6.3 | 1.6 | |
| Junho | 66 | 15.6 | | 6.6 | 197.7 | 167.5 | 12.4 | 0.6 | 3.7 | 2.4 | 0.5 | |
| Julho | 64 | 5.5 | | 6.7 | 247.9 | 184.9 | 21.8 | 1.5 | 1.2 | 0.6 | 0.2 | |
| Agosto | 64 | 5.6 | | 6.8 | 218.3 | 171.9 | 23.7 | 1.9 | 1.8 | 1.1 | 0.2 | |
| Setembro | 69 | 28.2 | | 6.5 | 158.0 | 115.1 | 16.1 | 0.6 | 5.0 | 3.7 | 0.9 | |
| Outubro | 74 | 76.0 | | 5.8 | 100.5 | 77.4 | 5.4 | 0.0 | 9.0 | 7.2 | 2.4 | |
| Novembro | 78 | 100.3 | | 5.4 | 59.7 | 42.3 | 0.1 | 0.3 | 11.1 | 9.2 | 3.3 | |
| Dezembro | 81 | 113.0 | | 6.1 | 50.1 | 31.6 | 0.0 | 0.0 | 13.4 | 11.1 | 4.1 | |
| Ano | 72 | 674.5 | | 6.2 | 1466.2 | 1213.8 | 87.1 | 5.0 | 97.4 | 76.3 | 28.2 | |

Estação agrometeorológica do ISA/IM. Secção de Agrometeorologia, Dep. Ciências do Ambiente, ISA, 2006.

Anexo B

Dados meteorológicos obtidos a partir da estação meteorológica da Tapada da Ajuda entre 6 de dezembro de 2016 e 3 de agosto de 2017

| Dia | T média ar | T máxima ar | T mínima ar | R total | Radiação Solar Global |
|----------|------------|-------------|-------------|---------|-----------------------|
| | °C | | | mm | MJ/m ² |
| 06/12/16 | 14,1 | 20,6 | 10,1 | 0 | 8,804 |
| 07/12/16 | 13,5 | 17,3 | 10,7 | 0,1 | 6,421 |
| 08/12/16 | 13,3 | 17,5 | 10,5 | 0,1 | 7,564 |
| 09/12/16 | 14,5 | 19,7 | 10,5 | 0 | 8,729 |
| 10/12/16 | 14,2 | 19,2 | 11,4 | 0 | 6,088 |
| 11/12/16 | 13,4 | 18,8 | 10,9 | 0,1 | 8,157 |
| 12/12/16 | 11,6 | 17,3 | 7,9 | 0,1 | 8,291 |
| 13/12/16 | 11,5 | 15,9 | 8,2 | 0,2 | 6,640 |
| 14/12/16 | 12,8 | 16 | 8,5 | 13,3 | 7,430 |
| 15/12/16 | 11,1 | 15,9 | 7 | 7,7 | 4,336 |
| 16/12/16 | 10,2 | 12,4 | 8,2 | 5,7 | 4,088 |
| 17/12/16 | 13,1 | 17 | 9,7 | 0 | 8,869 |
| 18/12/16 | 12,9 | 16,1 | 11,1 | 0,2 | 8,846 |
| 19/12/16 | 11,7 | 16,8 | 7,4 | 0 | 8,548 |
| 20/12/16 | 9,5 | 15,8 | 2,8 | 0 | 8,391 |
| 21/12/16 | 10,2 | 16,5 | 5,6 | 0 | 7,949 |
| 22/12/16 | 10,2 | 16,8 | 5,7 | 0 | 7,447 |
| 23/12/16 | 11,4 | 18,1 | 7,6 | 0,1 | 8,384 |
| 24/12/16 | 11,7 | 16,7 | 6,9 | 0,1 | 8,760 |
| 25/12/16 | 11,4 | 16,4 | 8,3 | 0 | 8,750 |
| 26/12/16 | 10,9 | 16,1 | 7,8 | 0 | 8,746 |
| 27/12/16 | 10 | 15,8 | 6,6 | 0 | 8,703 |
| 28/12/16 | 11,3 | 16,2 | 7,2 | 0 | 8,602 |
| 29/12/16 | 11,7 | 16,3 | 8,1 | 0 | 8,584 |
| 30/12/16 | 10,9 | 17,2 | 7,4 | 0 | 8,630 |
| 31/12/16 | 9,9 | 16,2 | 6,5 | 0 | 8,583 |
| 01/01/17 | 9 | 12,4 | 6,2 | 0 | 4,690 |
| 02/01/17 | 12,7 | 15,2 | 10 | 8,9 | 1,179 |
| 03/01/17 | 16,2 | 18,6 | 14,6 | 1,4 | 7,058 |
| 04/01/17 | 14,4 | 18,8 | 12,4 | 0 | 5,962 |
| 05/01/17 | 11,4 | 15,6 | 9,8 | 0 | 6,047 |
| 06/01/17 | 10,3 | 14,7 | 8 | 0,1 | 7,579 |
| 07/01/17 | 10,1 | 16,1 | 6,9 | 0 | 9,061 |
| 08/01/17 | 8,7 | 15,6 | 4,6 | 0 | 9,325 |
| 09/01/17 | 9 | 16,3 | 2,5 | 0 | 9,157 |
| 10/01/17 | 13,1 | 16,9 | 7,2 | 0,4 | 7,445 |
| 11/01/17 | 13,9 | 19,3 | 9,6 | 0 | 9,161 |
| 12/01/17 | 10,4 | 14,2 | 7,4 | 0,1 | 5,012 |
| 13/01/17 | 10,7 | 14,7 | 6,9 | 0,1 | 7,661 |

| | | | | | |
|----------|------|------|------|-------------------|--------|
| 14/01/17 | 9,4 | 14,4 | 5,2 | 0 | 10,046 |
| 15/01/17 | 9,2 | 15,1 | 5,5 | 0 | 9,976 |
| 16/01/17 | 8,7 | 16,2 | 2,8 | 0 | 9,776 |
| 17/01/17 | 9,7 | 18,2 | 2,7 | 0 | 9,670 |
| 18/01/17 | 6,8 | 10,7 | 1,3 | 0 | 10,665 |
| 19/01/17 | 5,9 | 11,4 | 1,2 | 0 | 10,512 |
| 20/01/17 | 5,8 | 13 | -0,4 | 0 | 8,853 |
| 21/01/17 | 8 | 14,7 | 1,4 | 0 | 9,973 |
| 22/01/17 | 9,2 | 15,8 | 3,6 | 0 | 7,829 |
| 23/01/17 | 11,1 | 16,4 | 8 | 0 | 10,587 |
| 24/01/17 | 9,2 | 15,2 | 3,5 | 0 | 10,238 |
| 25/01/17 | 8,2 | 13,9 | 2 | 0,1 | 8,102 |
| 26/01/17 | 12,2 | 13,7 | 8,6 | 29,5 | 1,754 |
| 27/01/17 | 10,4 | 14,5 | 7,1 | 8 | 9,866 |
| 28/01/17 | 10,8 | 16 | 6,6 | 1,6 | 7,393 |
| 29/01/17 | 14,4 | 16,9 | 12,8 | 0,1 | 7,454 |
| 30/01/17 | 13,8 | 16,5 | 12,5 | 0 | 5,855 |
| 31/01/17 | 12,2 | 12,9 | 10,9 | -990 ¹ | 1,836 |
| 01/02/17 | 12,5 | 16,2 | 8 | 1,8 | 9,313 |
| 02/02/17 | 14,5 | 16,7 | 12,7 | 7,2 | 8,254 |
| 03/02/17 | 14,8 | 15,9 | 13,6 | 0,9 | 4,175 |
| 04/02/17 | 15 | 16 | 14 | 3,1 | 3,226 |
| 05/02/17 | 12,8 | 16,3 | 8 | 0 | 12,251 |
| 06/02/17 | 12,3 | 16,7 | 7,5 | 0,1 | 11,841 |
| 07/02/17 | 13 | 16,2 | 7,3 | 5,5 | 7,297 |
| 08/02/17 | 9,6 | 16,7 | 5,3 | 0 | 13,638 |
| 09/02/17 | 8,7 | 15,2 | 5,2 | 6,5 | 8,214 |
| 10/02/17 | 7,9 | 12,6 | 4,8 | 2,5 | 7,390 |
| 11/02/17 | 8,9 | 11,7 | 6,4 | 7,9 | 3,598 |
| 12/02/17 | 11,2 | 15,3 | 9,1 | 9,9 | 9,032 |
| 13/02/17 | 12,4 | 16,1 | 8 | 3,2 | 11,456 |
| 14/02/17 | 13,5 | 17,8 | 9,6 | 11,2 | 12,191 |
| 15/02/17 | 13,6 | 18,9 | 10,1 | 0,1 | 10,415 |
| 16/02/17 | 13,9 | 20,6 | 10,4 | 0 | 14,488 |
| 17/02/17 | 13,2 | 19,6 | 9 | 0 | 14,251 |
| 18/02/17 | 11,6 | 16,6 | 7,2 | 0 | 10,071 |
| 19/02/17 | 12,8 | 18,4 | 8,5 | 0,5 | 14,978 |
| 20/02/17 | 14,7 | 19,3 | 11,1 | 0 | 15,642 |
| 21/02/17 | 14,9 | 19 | 11,7 | 0 | 11,919 |
| 22/02/17 | 15,3 | 21,1 | 11,3 | 0 | 13,130 |
| 23/02/17 | 13,8 | 19,8 | 9,9 | 0 | 11,803 |
| 24/02/17 | 13,6 | 18 | 10 | 0 | 13,907 |
| 25/02/17 | 12,4 | 16 | 8,8 | 0 | 5,962 |
| 26/02/17 | 12,3 | 16 | 9,9 | 0 | 7,7603 |
| 27/02/17 | 12,8 | 16,4 | 9,7 | 2,7 | 8,519 |

| | | | | | |
|----------|------|------|------|------|--------|
| 28/02/17 | 12,3 | 16,4 | 8,5 | 0,1 | 10,216 |
| 01/03/17 | 12,1 | 14,7 | 8,2 | 0 | 5,663 |
| 02/03/17 | 12,1 | 17,7 | 7,7 | 0 | 14,089 |
| 03/03/17 | 10,1 | 13,6 | 6,7 | 17,6 | 8,853 |
| 04/03/17 | 11,3 | 16,2 | 7,9 | 17,7 | 14,673 |
| 05/03/17 | 14,8 | 17,1 | 13,1 | 2 | 6,314 |
| 06/03/17 | 14,7 | 18,3 | 11,2 | 0 | 9,594 |
| 07/03/17 | 15,7 | 23,9 | 9,1 | 0 | 18,036 |
| 08/03/17 | 15,8 | 23,8 | 8,3 | 0 | 19,012 |
| 09/03/17 | 18,5 | 27,3 | 12,9 | 0 | 19,027 |
| 10/03/17 | 17,2 | 24,2 | 11,3 | 0 | 19,142 |
| 11/03/17 | 15,1 | 20 | 11,3 | 0 | 16,374 |
| 12/03/17 | 13,6 | 18,1 | 9,5 | 0,2 | 18,316 |
| 13/03/17 | 13,4 | 17,2 | 10,3 | 0,1 | 19,941 |
| 14/03/17 | 14,7 | 17,2 | 12,7 | 0 | 7,3601 |
| 15/03/17 | 16,8 | 22,6 | 12,9 | 0 | 18,196 |
| 16/03/17 | 15 | 21,3 | 10,8 | 0 | 16,085 |
| 17/03/17 | 15,5 | 20,5 | 11,8 | 0 | 15,294 |
| 18/03/17 | 16,4 | 24,9 | 8,2 | 0 | 20,540 |
| 19/03/17 | 13,8 | 22,4 | 7,5 | 0 | 19,920 |
| 20/03/17 | 13,6 | 17,7 | 11,5 | 0 | 19,315 |
| 21/03/17 | 13,5 | 17,7 | 9,1 | 0,4 | 15,465 |
| 22/03/17 | 10,9 | 16 | 5,9 | 3,3 | 15,196 |
| 23/03/17 | 7,7 | 12,5 | 4 | 5 | 13,930 |
| 24/03/17 | 8,5 | 13,9 | 4 | 8,3 | 12,717 |
| 25/03/17 | 10,8 | 14,5 | 7,1 | 1,4 | 20,273 |
| 26/03/17 | 10,4 | 12,5 | 7,9 | 25,7 | 3,111 |
| 27/03/17 | 13,8 | 17,3 | 9,7 | 0 | 18,515 |
| 28/03/17 | 13 | 18,8 | 8,4 | 0 | 20,966 |
| 29/03/17 | 14,6 | 21,7 | 9,4 | 0,2 | 22,326 |
| 30/03/17 | 15 | 21,8 | 9,5 | 0 | 19,931 |
| 31/03/17 | 14,6 | 17,9 | 9,6 | 0 | 22,844 |
| 01/04/17 | 13,8 | 19,6 | 8,9 | 0 | 22,485 |
| 02/04/17 | 14,3 | 21,2 | 7,7 | 0 | 23,647 |
| 03/04/17 | 16,1 | 25,6 | 7,4 | 0 | 23,541 |
| 04/04/17 | 18 | 26,1 | 11,5 | 0 | 23,775 |
| 05/04/17 | 18,9 | 26,8 | 9,8 | 0 | 24,288 |
| 06/04/17 | 18,6 | 24,4 | 13 | 0 | 24,927 |
| 07/04/17 | 18,6 | 27,1 | 11 | 0 | 24,515 |
| 08/04/17 | 18,4 | 26,8 | 11,7 | 0 | 24,567 |
| 09/04/17 | 17,8 | 25,7 | 11,2 | 0 | 23,210 |
| 10/04/17 | 19,8 | 26,7 | 13,6 | 0 | 21,079 |
| 11/04/17 | 19 | 28,9 | 13 | 0 | 24,954 |
| 12/04/17 | 17,5 | 26,3 | 11,2 | 0 | 24,632 |
| 13/04/17 | 15,8 | 21,7 | 11,2 | 0 | 24,202 |

| | | | | | |
|----------|------|------|------|------|--------|
| 14/04/17 | 16,1 | 23 | 11 | 0 | 23,581 |
| 15/04/17 | 16,6 | 24,7 | 10,8 | 0 | 23,648 |
| 16/04/17 | 16,2 | 23,6 | 9,2 | 0 | 26,132 |
| 17/04/17 | 17,8 | 27,1 | 9,3 | 0 | 23,164 |
| 18/04/17 | 20,7 | 25,5 | 15,8 | 0 | 15,931 |
| 19/04/17 | 19,1 | 24,8 | 14,4 | 0 | 25,121 |
| 20/04/17 | 19,9 | 27,3 | 14,6 | 0 | 23,444 |
| 21/04/17 | 18,1 | 24,7 | 14,6 | 0 | 22,865 |
| 22/04/17 | 17,4 | 25,3 | 11 | 0 | 22,154 |
| 23/04/17 | 18,4 | 23,8 | 13,2 | 0 | 24,107 |
| 24/04/17 | 17 | 23,7 | 10,8 | 0 | 25,221 |
| 25/04/17 | 15,3 | 20,8 | 10,6 | 0 | 18,888 |
| 26/04/17 | 13,6 | 18,8 | 9,7 | 0 | 17,513 |
| 27/04/17 | 15,4 | 21,8 | 10 | 0 | 27,234 |
| 28/04/17 | 17,1 | 23,9 | 11,7 | 0 | 26,572 |
| 29/04/17 | 14,8 | 19,9 | 9,6 | 0 | 23,862 |
| 30/04/17 | 14,6 | 18,2 | 8,1 | 4,3 | 20,596 |
| 01/05/17 | 13,4 | 20,4 | 7 | 0 | 28,403 |
| 02/05/17 | 16,4 | 26,6 | 6,4 | 0 | 28,730 |
| 03/05/17 | 19,4 | 27,8 | 10,4 | 0 | 26,671 |
| 04/05/17 | 17,3 | 21,1 | 13,8 | 2,3 | 16,110 |
| 05/05/17 | 15,9 | 19,4 | 13 | 10,8 | 25,472 |
| 06/05/17 | 16,8 | 21,1 | 12,5 | 0,1 | 26,976 |
| 07/05/17 | 19 | 28,2 | 10,9 | 0,1 | 28,873 |
| 08/05/17 | 18,8 | 25,3 | 12,3 | 0 | 28,456 |
| 09/05/17 | 16,7 | 21,1 | 12 | 1,5 | 18,995 |
| 10/05/17 | 16,8 | 19,3 | 13 | 12,9 | 11,987 |
| 11/05/17 | 16,5 | 20 | 13,1 | 19,2 | 20,651 |
| 12/05/17 | 16,8 | 20,6 | 12,5 | 4,7 | 24,041 |
| 13/05/17 | 16,3 | 19,9 | 11,2 | 0,4 | 21,788 |
| 14/05/17 | 18,1 | 21,8 | 14,1 | 0 | 22,404 |
| 15/05/17 | 20,9 | 29,2 | 13,9 | 0 | 22,050 |
| 16/05/17 | 23,3 | 32,3 | 16,6 | 0,4 | 23,221 |
| 17/05/17 | 20,6 | 25,9 | 14,4 | 0,5 | 27,933 |
| 18/05/17 | 15,8 | 20,1 | 12,4 | 0,3 | 24,870 |
| 19/05/17 | 16,1 | 22,7 | 8,7 | 0 | 30,952 |
| 20/05/17 | 21,3 | 31 | 8,8 | 0 | 29,725 |
| 21/05/17 | 21,6 | 28,6 | 17 | 0 | 23,555 |
| 22/05/17 | 20,6 | 27,4 | 15,8 | 0 | 28,587 |
| 23/05/17 | 23,4 | 32,3 | 13,6 | 0 | 29,241 |
| 24/05/17 | 23,1 | 30,8 | 16,9 | 0 | 28,416 |
| 25/05/17 | 22,6 | 28,6 | 16,4 | 0 | 27,720 |
| 26/05/17 | 18,5 | 24,2 | 14,3 | 0 | 15,393 |
| 27/05/17 | 18 | 21,8 | 13,7 | 0 | 14,181 |
| 28/05/17 | 18,6 | 22,9 | 16,1 | 2,3 | 17,855 |

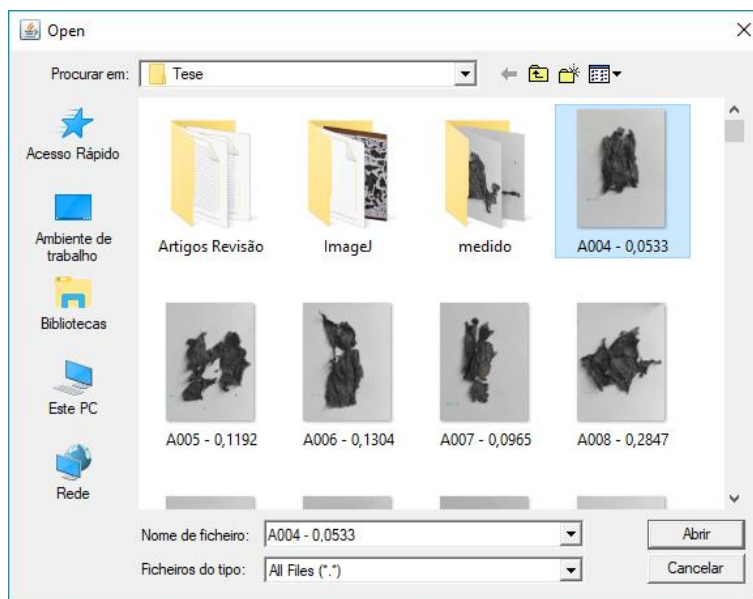
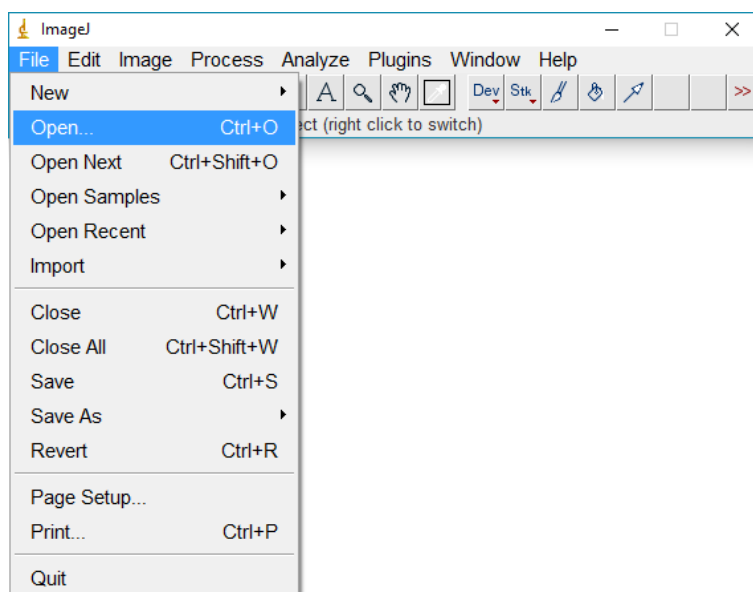
| | | | | | |
|----------|------|------|------|-----|--------|
| 29/05/17 | 18,9 | 23,8 | 15,8 | 2,7 | 21,756 |
| 30/05/17 | 19 | 24,8 | 13,5 | 0 | 30,621 |
| 31/05/17 | 19,5 | 26,6 | 14,3 | 0 | 31,079 |
| 01/06/17 | 19,1 | 27,1 | 13,4 | 0 | 30,967 |
| 02/06/17 | 19,1 | 27 | 11,9 | 0 | 30,746 |
| 03/06/17 | 18 | 22,3 | 14,8 | 0 | 28,547 |
| 04/06/17 | 18 | 22,9 | 14,7 | 0 | 31,175 |
| 05/06/17 | 18,9 | 24,5 | 13,7 | 0 | 31,069 |
| 06/06/17 | 19,6 | 25,2 | 15,5 | 0 | 26,986 |
| 07/06/17 | 23,2 | 32 | 12,6 | 0 | 31,328 |
| 08/06/17 | 21,3 | 27,8 | 15,6 | 0 | 24,278 |
| 09/06/17 | 21,2 | 27,7 | 15,4 | 0 | 28,730 |
| 10/06/17 | 22 | 31,1 | 13,8 | 0 | 30,412 |
| 11/06/17 | 22,2 | 29,6 | 15,4 | 0 | 31,977 |
| 12/06/17 | 22,9 | 33,2 | 14 | 0 | 29,356 |
| 13/06/17 | 23,1 | 31,7 | 17,6 | 0 | 27,145 |
| 14/06/17 | 21,1 | 26,3 | 16,1 | 0 | 31,087 |
| 15/06/17 | 22,1 | 31,4 | 13,6 | 0 | 31,373 |
| 16/06/17 | 25,1 | 37 | 14,4 | 0 | 29,875 |
| 17/06/17 | 30,6 | 40,3 | 19,8 | 0,1 | 29,546 |
| 18/06/17 | 29 | 38,1 | 21,2 | 0 | 25,450 |
| 19/06/17 | 26,7 | 37,5 | 19,9 | 0 | 28,658 |
| 20/06/17 | 24,6 | 32,2 | 19,8 | 0 | 29,546 |
| 21/06/17 | 21,1 | 25,3 | 17 | 0 | 19,228 |
| 22/06/17 | 21,5 | 29,5 | 15,1 | 0 | 30,912 |
| 23/06/17 | 22,8 | 30,3 | 15,1 | 0 | 29,689 |
| 24/06/17 | 21,6 | 27,7 | 16,5 | 0 | 16,251 |
| 25/06/17 | 19,9 | 26,9 | 15,6 | 0,2 | 14,711 |
| 26/06/17 | 19,6 | 23,9 | 15,2 | 0 | 21,596 |
| 27/06/17 | 20,2 | 25,2 | 15 | 0 | 21,721 |
| 28/06/17 | 20,1 | 24,9 | 14,5 | 1,2 | 24,050 |
| 29/06/17 | 18,4 | 23 | 14,5 | 0 | 24,900 |
| 30/06/17 | 18,2 | 23,6 | 13,8 | 0 | 26,031 |
| 01/07/17 | 20 | 27,3 | 13,9 | 0 | 32,402 |
| 02/07/17 | 25,8 | 35,6 | 14,9 | 0 | 31,752 |
| 03/07/17 | 26,4 | 33,6 | 17,3 | 0 | 31,183 |
| 04/07/17 | 21,1 | 28,2 | 16,7 | 0 | 28,080 |
| 05/07/17 | 19,2 | 23,8 | 14,5 | 0 | 14,636 |
| 06/07/17 | 19,3 | 24,7 | 16 | 1,7 | 24,129 |
| 07/07/17 | 20,4 | 25,4 | 15,2 | 0 | 28,046 |
| 08/07/17 | 19,5 | 23,1 | 17,9 | 0 | 11,900 |
| 09/07/17 | 20,7 | 26,7 | 16,8 | 0 | 28,584 |
| 10/07/17 | 20,4 | 26,6 | 16,3 | 0 | 30,526 |
| 11/07/17 | 22,5 | 30,7 | 15,6 | 0 | 31,148 |
| 12/07/17 | 26 | 36,1 | 17,2 | 0 | 30,272 |

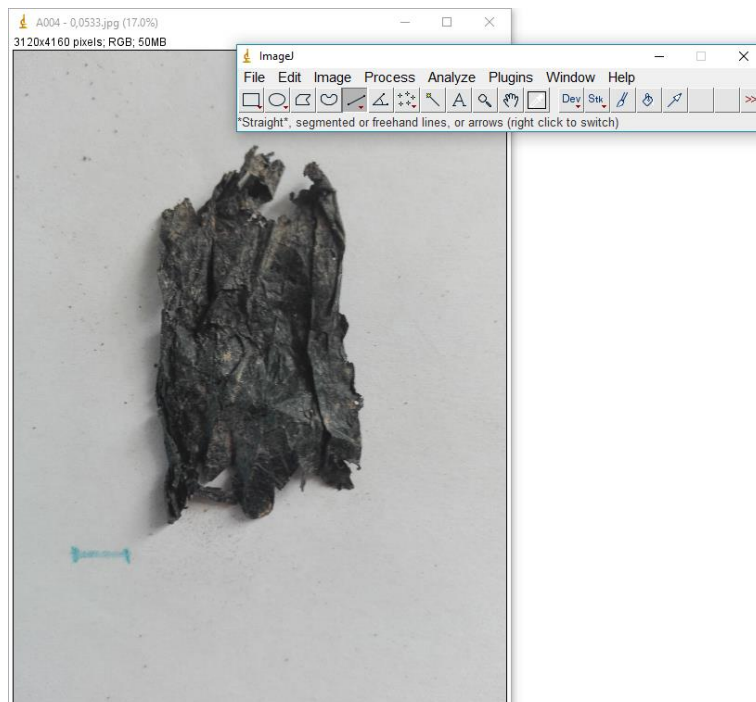
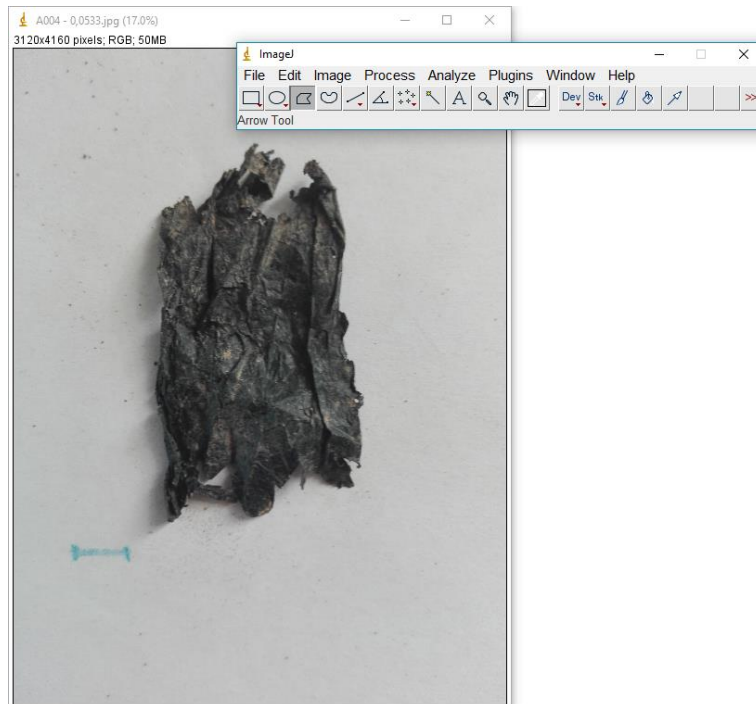
| | | | | | |
|----------|------|------|------|-----|--------|
| 13/07/17 | 26,2 | 34,3 | 19,9 | 0 | 27,592 |
| 14/07/17 | 23,7 | 31,4 | 16,5 | 0 | 31,365 |
| 15/07/17 | 22,2 | 31 | 15,1 | 0 | 31,333 |
| 16/07/17 | 21,2 | 27,9 | 14,1 | 0 | 29,892 |
| 17/07/17 | 19,9 | 25,3 | 14 | 0 | 29,665 |
| 18/07/17 | 19,9 | 25,2 | 14,3 | 0 | 16,233 |
| 19/07/17 | 20,9 | 26,8 | 16,8 | 0,5 | 22,076 |
| 20/07/17 | 19,3 | 24,1 | 15,9 | 0 | 24,723 |
| 21/07/17 | 19,6 | 24,9 | 15,7 | 0 | 30,085 |
| 22/07/17 | 21,1 | 28,1 | 16,6 | 0 | 29,481 |
| 23/07/17 | 21,8 | 29,4 | 14,9 | 0 | 30,117 |
| 24/07/17 | 22,1 | 29,1 | 18,4 | 0 | 30,113 |
| 25/07/17 | 24,2 | 34,1 | 16,4 | 0 | 29,716 |
| 26/07/17 | 26,1 | 34,5 | 18,6 | 0 | 29,292 |
| 27/07/17 | 22,2 | 30 | 14,6 | 0 | 30,500 |
| 28/07/17 | 24,3 | 33,7 | 17,1 | 0 | 29,747 |
| 29/07/17 | 23,3 | 32,4 | 17,6 | 0 | 28,027 |
| 30/07/17 | 22,3 | 29,3 | 17,5 | 0 | 28,279 |
| 31/07/17 | 19,1 | 24,8 | 13,7 | 0 | 16,692 |
| 01/08/17 | 20,7 | 27,2 | 15,2 | 0 | 28,381 |
| 02/08/17 | 21,7 | 29,2 | 15,8 | 0 | 29,561 |
| 03/08/17 | 24,6 | 33,2 | 17,3 | 0 | 28,299 |

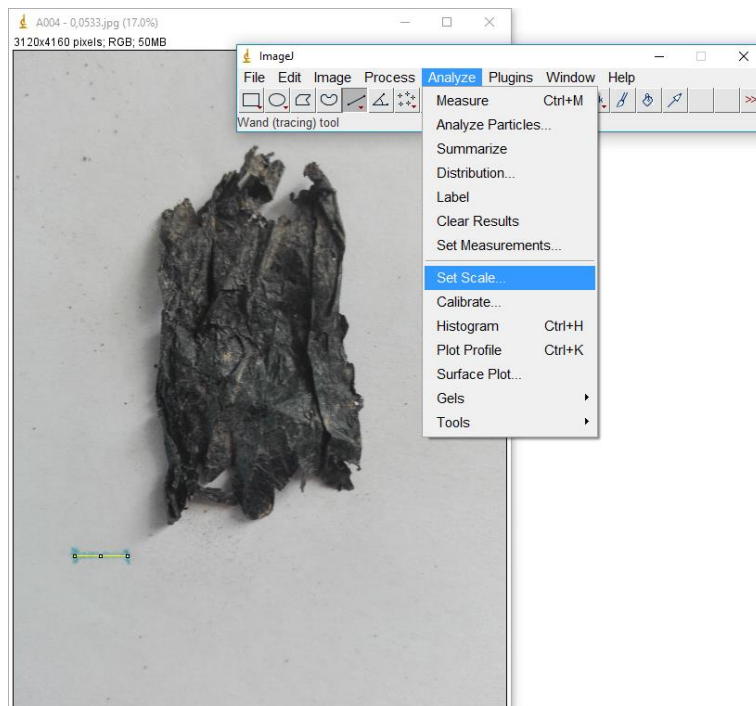
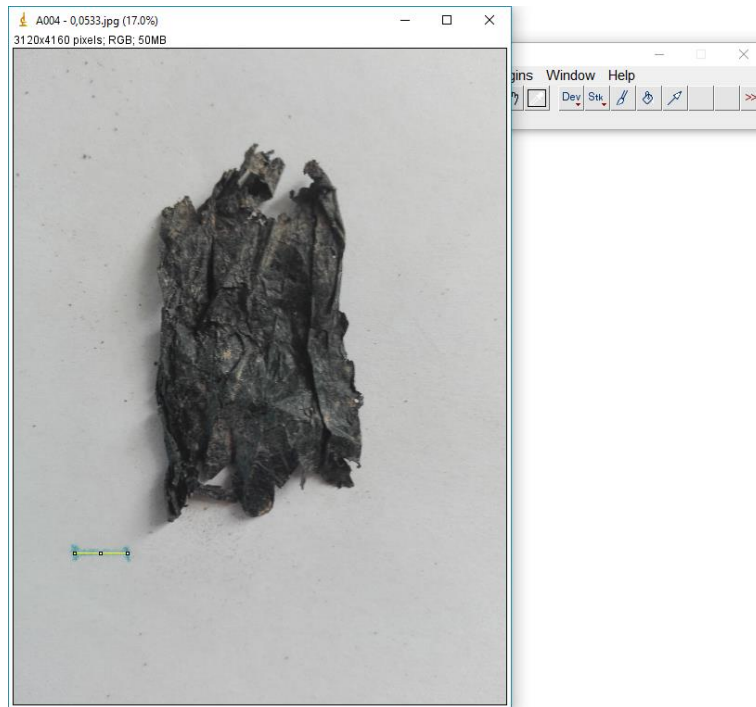
¹ O valor -990 corresponde a uma falha de observação

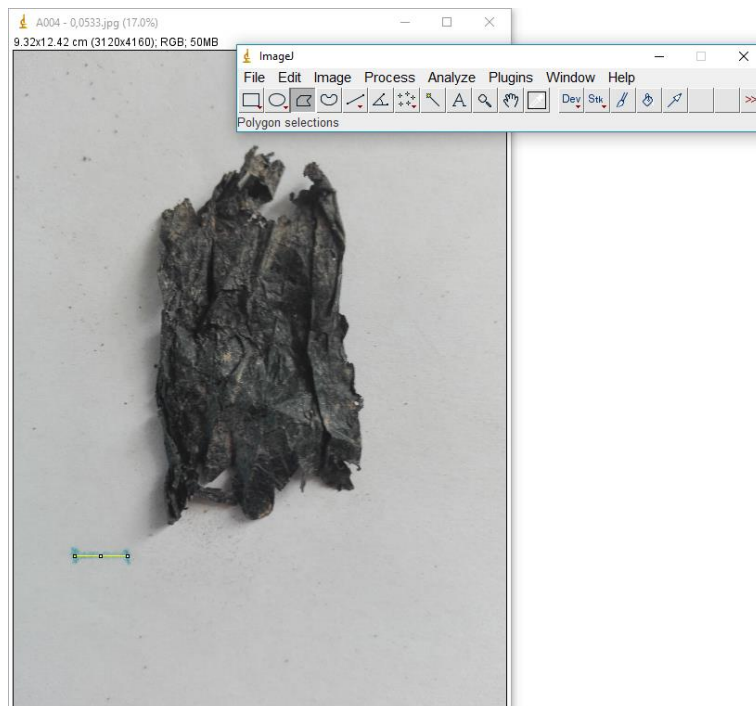
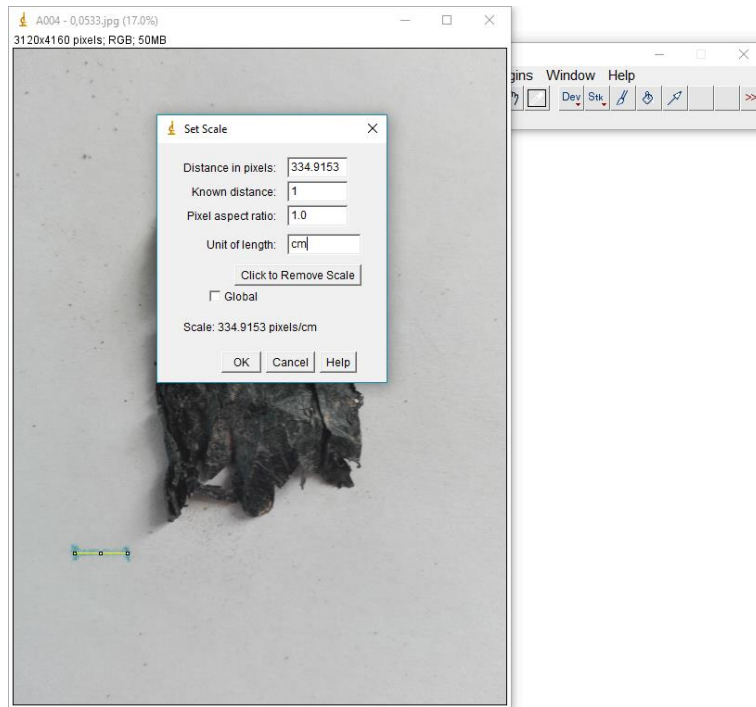
Anexo C

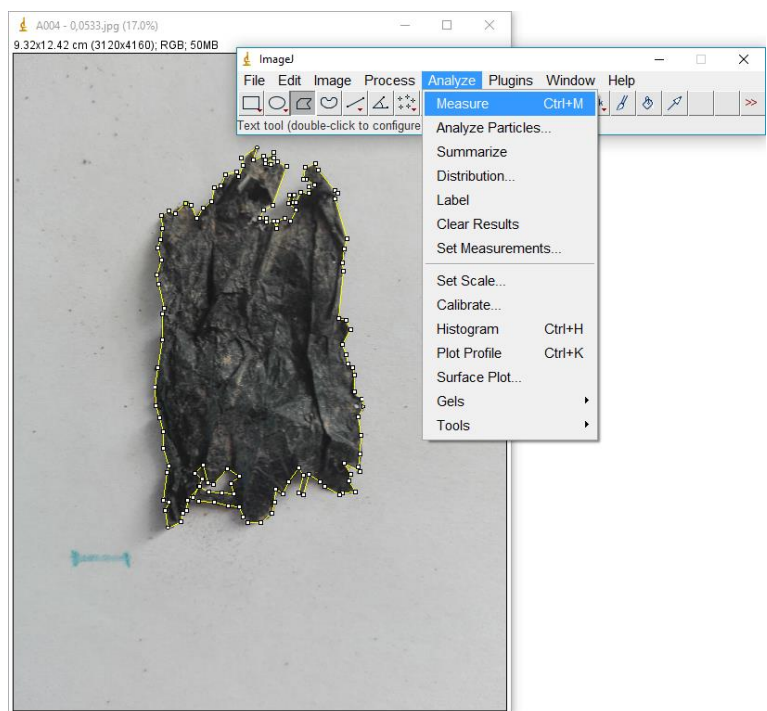
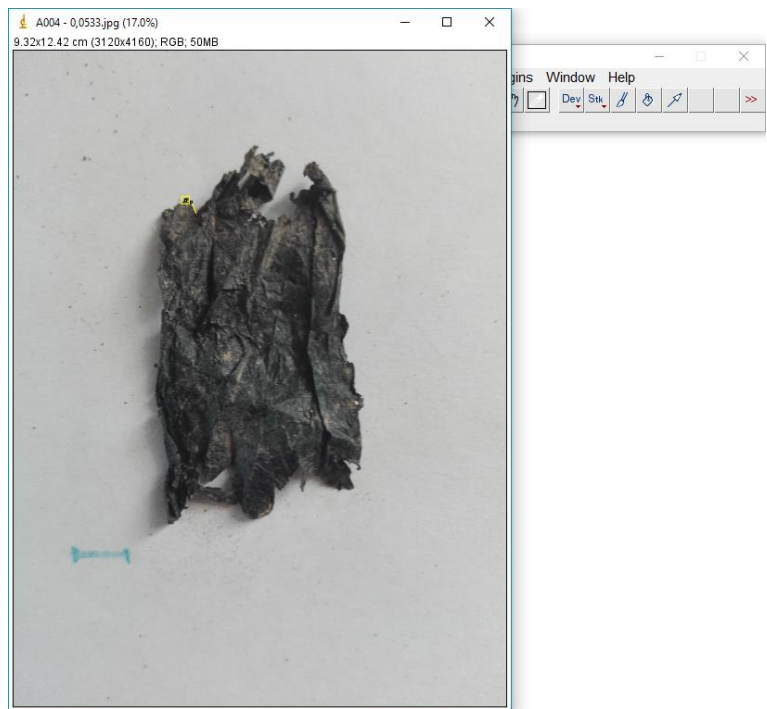
Processo da medição de área efetuadas com o *software* ImageJ

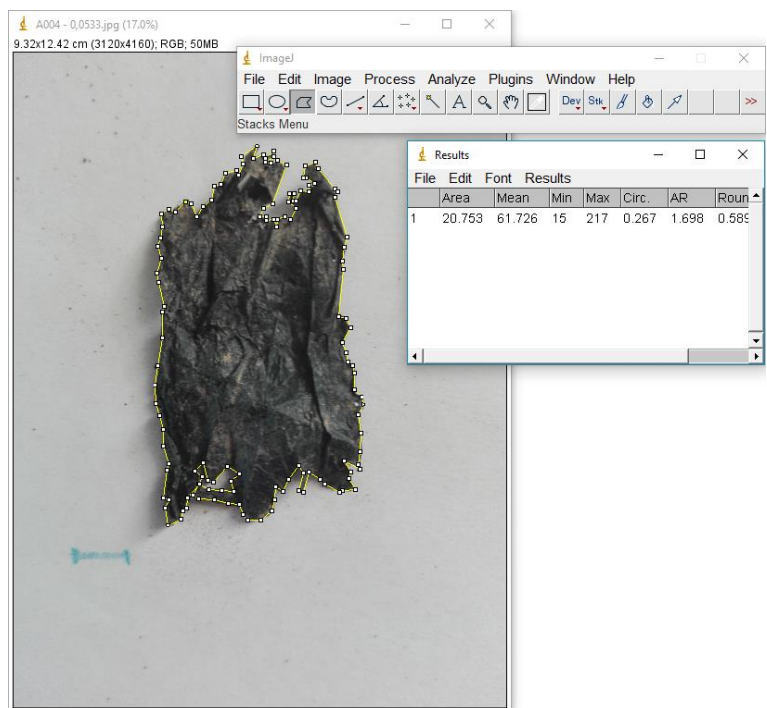












Anexo D

Número de fragmentos e área (cm²) correspondente a cada um

| Número do fragmento | Área do fragmento (cm ²) | Número do fragmento | Área do fragmento (cm ²) | Número do fragmento | Área do fragmento (cm ²) | Número do fragmento | Área do fragmento (cm ²) |
|---------------------|--------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|
| 1 | 8,552 | 103 | 26,551 | 204 | 6,540 | 305 | 4,489 |
| 2 | 42,160 | 104 | 44,170 | 205 | 66,501 | 306 | 8,113 |
| 3 | 19,277 | 105 | 174,122 | 206 | 2,645 | 307 | 10,558 |
| 4 | 20,753 | 106 | 35,243 | 207 | 2,327 | 308 | 3,791 |
| 5 | 70,820 | 107 | 16,308 | 208 | 21,208 | 309 | 5,046 |
| 6 | 66,760 | 108 | 100,875 | 209 | 1,695 | 310 | 11,301 |
| 7 | 18,293 | 109 | 39,797 | 210 | 10,312 | 311 | 6,181 |
| 8 | 105,848 | 110 | 45,665 | 211 | 18,212 | 312 | 2,622 |
| 9 | 29,444 | 111 | 17,294 | 212 | 5,065 | 313 | 56,865 |
| 10 | 10,459 | 112 | 13,483 | 213 | 6,417 | 314 | 75,120 |
| 11 | 9,705 | 113 | 45,605 | 214 | 18,312 | 315 | 42,920 |
| 12 | 66,741 | 114 | 71,262 | 215 | 13,297 | 316 | 4,032 |
| 13 | 28,887 | 115 | 48,275 | 216 | 1,822 | 317 | 21,248 |
| 14 | 16,080 | 116 | 14,901 | 217 | 2,790 | 318 | 47,245 |
| 15 | 48,305 | 117 | 16,312 | 218 | 5,838 | 319 | 31,094 |
| 16 | 9,250 | 118 | 28,501 | 219 | 6,830 | 320 | 260,596 |
| 17 | 92,612 | 119 | 24,231 | 220 | 2,517 | 321 | 29,270 |
| 18 | 10,595 | 120 | 11,965 | 221 | 41,979 | 322 | 43,394 |
| 19 | 12,226 | 121 | 20,760 | 222 | 25,703 | 323 | 0,843 |
| 20 | 28,276 | 122 | 8,406 | 223 | 4,189 | 324 | 2,270 |
| 21 | 9,919 | 123 | 14,516 | 224 | 22,320 | 325 | 16,958 |
| 22 | 4,100 | 124 | 9,536 | 225 | 165,720 | 326 | 1,479 |
| 23 | 15,544 | 125 | 23,227 | 226 | 181,212 | 327 | 3,005 |
| 24 | 8,084 | 126 | 24,663 | 227 | 24,608 | 328 | 9,805 |
| 25 | 7,375 | 127 | 37,376 | 228 | 5,845 | 329 | 5,103 |
| 26 | 14,896 | 128 | 20,240 | 229 | 23,869 | 330 | 6,883 |
| 27 | 10,471 | 129 | 10,675 | 230 | 41,944 | 331 | 11,966 |
| 28 | 6,687 | 130 | 18,654 | 231 | 12,101 | 332 | 50,538 |
| 29 | 2,178 | 131 | 39,865 | 232 | 11,925 | 333 | 132,197 |
| 30 | 7,962 | 132 | 34,290 | 233 | 5,714 | 334 | 31,374 |
| 31 | 6,290 | 133 | 2,799 | 234 | 8,270 | 335 | 59,038 |
| 32 | 2,983 | 134 | 4,730 | 235 | 42,404 | 336 | 23,242 |
| 33 | 4,353 | 135 | 21,499 | 236 | 36,299 | 337 | 48,643 |
| 34 | 0,582 | 136 | 10,322 | 237 | 2,613 | 338 | 131,095 |
| 35 | 9,523 | 137 | 4,584 | 238 | 10,638 | 339 | 11,935 |
| 36 | 5,829 | 138 | 19,807 | 239 | 14,659 | 340 | 15,056 |
| 37 | 2,144 | 139 | 65,416 | 240 | 122,562 | 341 | 20,613 |
| 38 | 12,227 | 140 | 124,776 | 241 | 29,225 | 342 | 6,406 |
| 39 | 44,711 | 141 | 6,447 | 242 | 5,780 | 343 | 11,876 |
| 40 | 13,576 | 142 | 3,347 | 243 | 5,167 | 344 | 6,962 |
| 41 | 12,834 | 143 | 5,977 | 244 | 4,304 | 345 | 39,743 |
| 42 | 2,080 | 144 | 60,541 | 245 | 8,502 | 346 | 128,463 |

| | | | | | | | |
|----|---------|-----|--------|-----|---------|-----|--------|
| 43 | 12,628 | 145 | 13,005 | 246 | 27,680 | 347 | 24,249 |
| 44 | 8,124 | 146 | 31,168 | 247 | 10,108 | 348 | 32,357 |
| 45 | 5,438 | 147 | 4,167 | 248 | 17,760 | 349 | 19,299 |
| 46 | 7,652 | 148 | 6,294 | 249 | 147,477 | 350 | 4,448 |
| 47 | 7,177 | 149 | 8,710 | 250 | 30,737 | 351 | 10,975 |
| 48 | 5,370 | 150 | 19,695 | 251 | 29,687 | 352 | 51,737 |
| 49 | 3,465 | 151 | 22,325 | 252 | 23,580 | 353 | 17,633 |
| 50 | 4,636 | 152 | 56,732 | 253 | 7,303 | 354 | 47,416 |
| 51 | 2,995 | 153 | 13,776 | 254 | 111,160 | 355 | 44,212 |
| 52 | 3,500 | 154 | 7,676 | 255 | 67,334 | 356 | 8,051 |
| 53 | 6,683 | 155 | 13,135 | 256 | 12,657 | 357 | 21,610 |
| 54 | 4,893 | 156 | 10,921 | 257 | 78,071 | 358 | 13,340 |
| 55 | 3,018 | 157 | 2,567 | 258 | 27,309 | 359 | 97,216 |
| 56 | 2,018 | 158 | 3,730 | 259 | 77,588 | 360 | 40,207 |
| 57 | 3,971 | 159 | 13,857 | 260 | 4,103 | 361 | 49,397 |
| 58 | 3,308 | 160 | 19,531 | 261 | 3,161 | 362 | 22,111 |
| 59 | 2,489 | 161 | 10,595 | 262 | 57,364 | 363 | 39,425 |
| 60 | 5,531 | 162 | 5,038 | 263 | 97,630 | 364 | 11,243 |
| 61 | 2,769 | 163 | 7,459 | 264 | 25,720 | 365 | 16,439 |
| 62 | 3,318 | 164 | 12,221 | 265 | 124,374 | 366 | 17,134 |
| 63 | 4,802 | 165 | 66,087 | 266 | 104,896 | 367 | 20,463 |
| 64 | 3,864 | 166 | 12,568 | 267 | 32,100 | 368 | 2,890 |
| 65 | 4,256 | 167 | 19,719 | 268 | 17,861 | 369 | 93,742 |
| 66 | 2,714 | 168 | 4,177 | 269 | 16,906 | 370 | 46,413 |
| 67 | 2,505 | 169 | 4,350 | 270 | 18,616 | 371 | 39,700 |
| 68 | 3,373 | 170 | 58,860 | 271 | 17,701 | 372 | 87,781 |
| 69 | 0,603 | 171 | 12,239 | 272 | 22,979 | 373 | 12,111 |
| 70 | 1,227 | 172 | 6,275 | 273 | 85,978 | 374 | 16,545 |
| 71 | 2,673 | 173 | 2,596 | 274 | 16,357 | 375 | 24,528 |
| 72 | 3,855 | 174 | 36,411 | 275 | 125,418 | 376 | 24,697 |
| 73 | 3,340 | 175 | 12,766 | 276 | 12,111 | 377 | 22,168 |
| 74 | 0,772 | 176 | 26,843 | 277 | 50,238 | 378 | 49,466 |
| 75 | 5,688 | 177 | 62,155 | 278 | 38,533 | 379 | 43,743 |
| 76 | 81,601 | 178 | 5,461 | 279 | 44,567 | 380 | 7,916 |
| 77 | 38,532 | 179 | 7,843 | 280 | 19,736 | 381 | 9,562 |
| 78 | 22,691 | 180 | 1,646 | 281 | 8,445 | 382 | 52,390 |
| 79 | 63,797 | 181 | 0,440 | 282 | 14,244 | 383 | 23,604 |
| 80 | 24,453 | 182 | 0,703 | 283 | 49,785 | 384 | 36,596 |
| 81 | 29,883 | 183 | 0,633 | 284 | 17,560 | 385 | 39,698 |
| 82 | 37,844 | 184 | 5,632 | 285 | 13,162 | 386 | 19,899 |
| 83 | 19,227 | 185 | 1,026 | 286 | 43,408 | 387 | 35,572 |
| 84 | 346,300 | 186 | 6,289 | 287 | 1,082 | 388 | 61,164 |
| 85 | 16,876 | 187 | 4,238 | 288 | 4,447 | 389 | 26,901 |
| 86 | 9,112 | 188 | 35,403 | 289 | 16,613 | 390 | 85,529 |
| 87 | 6,527 | 189 | 63,277 | 290 | 44,240 | 391 | 8,587 |
| 88 | 31,292 | 190 | 3,791 | 291 | 23,720 | 392 | 67,450 |
| 89 | 51,808 | 191 | 8,083 | 292 | 65,423 | 393 | 40,477 |

| | | | | | | | |
|-----|---------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|
| 90 | 388,097 | 192 | 5,743 | 293 | 5,592 | 394 | 32,637 |
| 91 | 240,058 | 193 | 6,147 | 294 | 34,830 | 395 | 16,383 |
| 92 | 104,134 | 194 | 63,451 | 295 | 5,858 | 396 | 8,767 |
| 93 | 12,406 | 195 | 1,793 | 296 | 1,088 | 397 | 9,737 |
| 94 | 8,224 | 196 | 2,017 | 297 | 4,231 | 398 | 33,728 |
| 95 | 22,268 | 197 | 66,947 | 298 | 3,054 | 399 | 10,067 |
| 96 | 85,052 | 198 | 5,159 | 299 | 24,977 | 400 | 6,082 |
| 97 | 49,491 | 199 | 2,098 | 300 | 14,016 | 401 | 10,413 |
| 98 | 6,034 | 200 | 1,078 | 301 | 8,517 | 402 | 18,062 |
| 99 | 5,862 | 201 | 2,103 | 302 | 4,447 | 403 | 25,724 |
| 100 | 10,481 | 202 | 1,442 | 303 | 0,835 | 404 | 6,551 |
| 101 | 7,911 | 203 | 5,841 | 304 | 9,473 | 405 | 9,630 |
| 102 | 19,832 | | | | | | |